

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 513 819**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/06 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2007 E 07736961 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.10.2014 EP 2000467**

54 Título: **Hidrato para usos medicinales**

30 Prioridad:

27.03.2006 JP 2006084708

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

27.10.2014

73 Titular/es:

**DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)
3-5-1, Nihonbashi Honcho Chuo-ku
Tokyo 103-8426, JP**

72 Inventor/es:

**ONO, MAKOTO y
YOSHIDA, SHOKO**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 513 819 T3

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

DESCRIPCIÓN

Hidrato para usos medicinales.

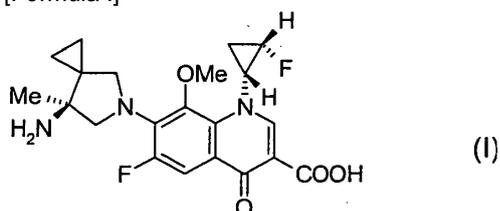
5 Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un compuesto adecuado para un polvo farmacéutico a granel que se utiliza para la fabricación de preparaciones farmacéuticas, en particular, de preparaciones sólidas.

Descripción de la técnica relacionada

Fórmula (I):

[Fórmula I]



Se espera un compuesto de quinolona novedoso que tiene la estructura anterior como un agente antibacteriano de quinolona sintético que tiene excelentes propiedades, como un medicamento que es especialmente activo no sólo contra las bacterias gram-negativas, sino también contra las bacterias Gram-positivas que muestran baja sensibilidad a agentes antibacterianos de quinolona, y tiene una seguridad y una farmacocinética excelentes (Documento JP-A-2005-146386).

Con el fin de proporcionar un compuesto como medicamento, se requiere un compuesto (o sustancia cristalina) que tenga propiedades adecuadas para un polvo farmacéutico a granel, que tenga propiedades para ser transformado en varios tipos de preparaciones, en particular preparaciones sólidas. Se requiere que semejante compuesto tenga una excelente estabilidad, de tal manera que se requiere que el compuesto tenga una excelente estabilidad química, no para absorber y desorber la humedad, o no para causar la transición cristalina; o no para desorber agua de cristalización cuando el compuesto es un hidrato. Además, incluso cuando el compuesto tiene semejante estabilidad (estabilidad de almacenamiento), se requiere un disolvente que se utiliza para obtener el compuesto para que sea seguro. Sin embargo, en cuanto al compuesto representado por la Fórmula (I), no se han descrito compuestos que satisfagan tales propiedades.

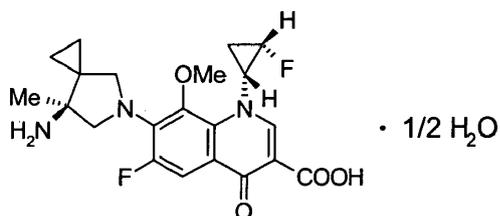
35 Descripción de la invención**Problemas a resolver por la invención**

Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto que tenga propiedades utilizables para un polvo farmacéutico a granel para la fabricación de preparaciones farmacéuticas sólidas con respecto al compuesto representado por la Fórmula (I).

Medios para resolver los problemas

Los autores de la presente invención han encontrado que: un hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) (que puede ser simplemente abreviado como "hemihidrato" en la presente memoria; véase la siguiente fórmula),

[Fórmula 2]

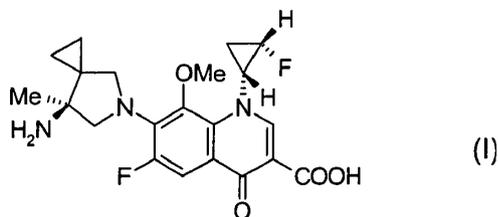


50

tiene una estabilidad suficiente de conservación; el hemihidrato se puede preparar con un disolvente que tenga una excelente seguridad; y el hemihidrato tiene las propiedades requeridas para un polvo farmacéutica a granel. De este modo, los autores de la presente invención han completado la presente invención.

5 Es decir, la presente invención se refiere a un hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I).

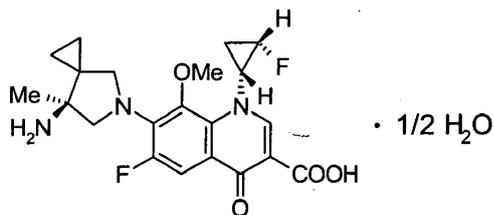
[Fórmula 3]



10 Más específicamente, la presente invención se refiere a un compuesto representado por los siguientes aspectos: 1. hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolino-3-carboxílico; y

15 2. la siguiente fórmula

[Fórmula 4]



20 Adicionalmente, la presente invención se refiere a un medicamento que comprende el hemihidrato.

Además, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el hemihidrato y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 La presente invención también se refiere al uso del hemihidrato para la fabricación de un medicamento.

También se describe un método para prevenir o tratar enfermedades infecciosas en donde se administra una cantidad eficaz del hemihidrato.

30 Efecto ventajoso de la invención

La presente invención proporciona un compuesto que es estable y fácil de preparar. La presente invención proporciona un compuesto que tiene excelentes propiedades para un polvo farmacéutico a granel.

35 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un diagrama que muestra la eficacia terapéutica del hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) en un modelo murino de infección local PRSP de pulmón;

40 La Fig. 2 es un diagrama que muestra la eficacia terapéutica del hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) en un modelo de rata de cistitis simple causada por E. coli;

La Fig. 3 es un diagrama que muestra un espectro de difracción de rayos X de polvo del compuesto de acuerdo con la presente invención: hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolino-3-carboxílico;

45 La Fig. 4 es un diagrama que muestra un espectro de análisis térmico (TG/DTA) del compuesto de acuerdo con la presente invención;

La Fig. 5 es un diagrama que muestra el patrón de comportamiento de sorción y desorción de humedad del compuesto de acuerdo con la presente invención;

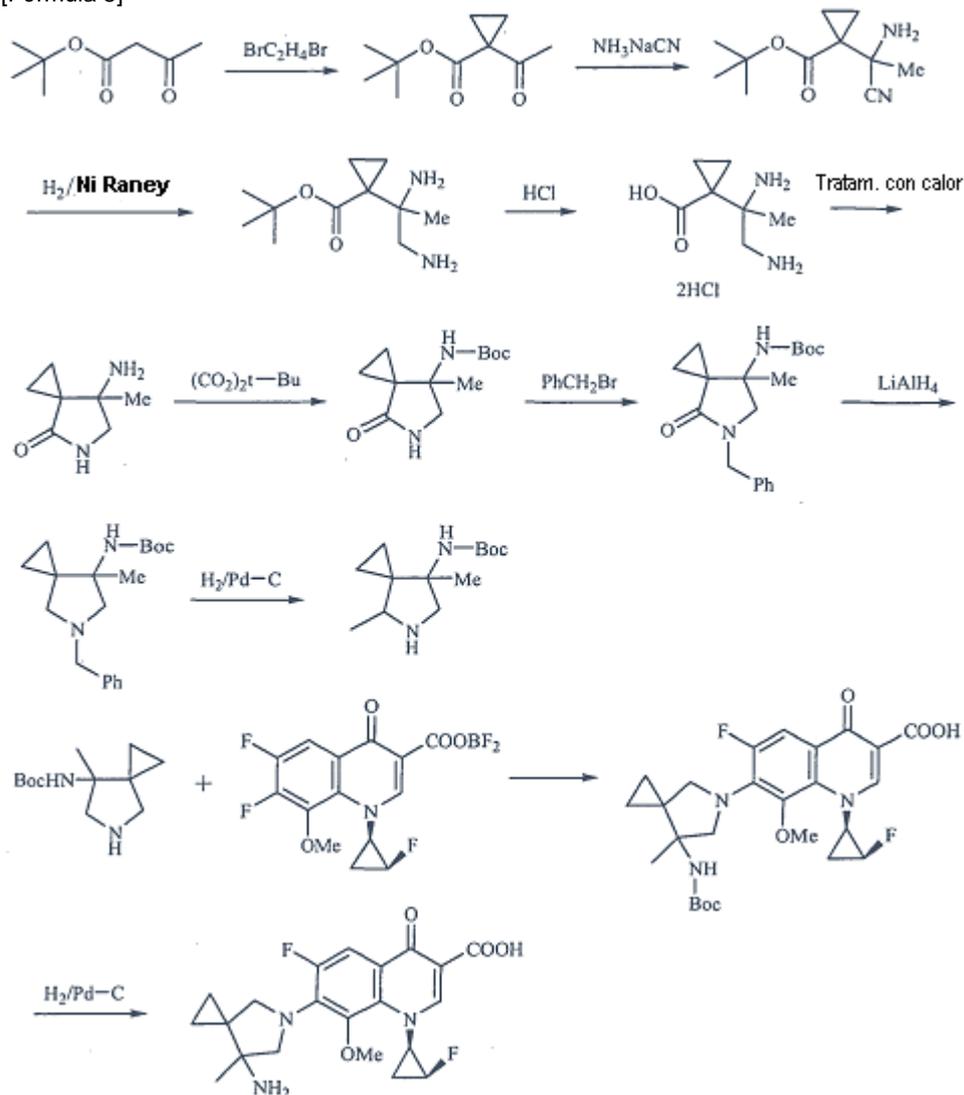
La Fig. 6 es un diagrama que muestra los patrón de cambio de sorción y desorción de humedad del compuesto de acuerdo con la presente invención después de la deshidratación térmica (60°C); y

La Fig. 7 es un diagrama que muestra patrones de cambio de los espectros de difracción de rayos X del compuesto de acuerdo con la presente invención en los tratamientos térmicos.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

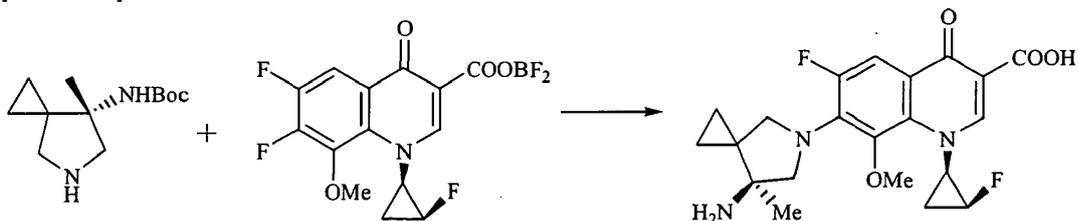
5 El compuesto representado por la Fórmula (I) se puede fabricar, por ejemplo, de acuerdo con los Ejemplos de Referencia 1 a 11 o los Ejemplos de Referencia 12 a 22, que se describen más adelante. Esto es, de acuerdo con los Ejemplos de Referencia 1 a 11, el compuesto representado por la Fórmula (I) se puede fabricar de acuerdo con las siguientes fórmulas de reacción.

10 [Fórmula 5]



15 Además, de acuerdo con los Ejemplos de Referencia 12 a 22, el compuesto representado por la Fórmula (I) puede ser fabricado de acuerdo con la siguiente fórmula de reacción.

[Fórmula 6]



El hemihidrato de acuerdo con la presente invención se puede obtener por recristalización del compuesto representado por la Fórmula (I) a partir de acetonitrilo. Para preparar el hemihidrato, se pueden usar diversas formas del compuesto representado por la Fórmula (I). Los ejemplos de semejante compuesto pueden incluir anhídridos, etanolato obtenido en los Ejemplos de Referencia, y compuestos brutos del propio hemihidrato.

La cantidad de acetonitrilo que se va a utilizar en la recristalización del hemihidrato a partir de acetonitrilo puede ser de aproximadamente 5 a 20 (v/p), preferiblemente 5 a 15 (v/p) con respecto al material de partida. La recristalización se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos ordinarios en la técnica. En un ejemplo preferido, se añade el material se añade al acetonitrilo, se disuelve por calentamiento a 50°C, y se enfría a 25°C para precipitar el cristal de hemihidrato.

También se pueden utilizar disolventes distintos de acetonitrilo para obtener el hemihidrato de acuerdo con la presente invención. Los ejemplos de tales disolventes pueden incluir ésteres, cetonas y éteres. Los ejemplos de los ésteres pueden incluir formiato de etilo y acetato de metilo. Los ejemplos de las cetonas pueden incluir metililcetona, metilisopropilcetona, 2-pentanona, y 3-pentanona. Los ejemplos de los éteres pueden incluir tetrahidrofurano. Además, los disolventes anteriores se pueden utilizar como disolventes mixtos con alcohol o agua. En el caso de la utilización de tales disolventes, como es el caso en el que se utiliza acetonitrilo, se añade el material a los disolventes, se disuelve por calentamiento a 50°C, y se enfría a 25°C para precipitar cristal de hemihidrato.

Sorprendentemente, se ha encontrado que el hemihidrato de acuerdo con la presente invención tiene las siguientes propiedades excelentes:

1. El peso de semejante compuesto cambia ligeramente con los cambios de humedad, es decir, el compuesto muestra un comportamiento de sorción y desorción de humedad estable;
2. Para el cambio de sorción y desorción de humedad después de la deshidratación térmica, el compuesto se rehidrata rápidamente después de la deshidratación térmica, y el compuesto mantiene casi las mismas propiedades que antes del tratamiento térmico;
3. Para el cambio de la forma cristalina después de la deshidratación térmica, el compuesto tiene su estado cristalino incluso después de ser deshidratado, y se restablece a un hemihidrato estable mediante la absorción de humedad, por lo que el compuesto se rehidrata rápidamente;
4. La forma cristalina del compuesto no cambia durante el almacenamiento; y
5. El compuesto es estable y no cambia en su contenido en condiciones térmicas de humedad o en condiciones térmicas en seco.

Y también se ha encontrado que el compuesto tiene una estabilidad excelente y es preferible para un polvo farmacéutico a granel.

El hemihidrato de acuerdo con la presente invención muestra una fuerte actividad antibacteriana, y por lo tanto el hemihidrato puede ser utilizado como un medicamento para seres humanos, animales, o peces; un producto químico agrícola; o un conservante para alimentos. En el caso de utilizar el hemihidrato de acuerdo con la presente invención como un medicamento para los seres humanos, su dosis diaria para adultos puede ser de 50 mg a 1 g, preferiblemente de 100 a 500 mg. La dosis para uso veterinario varía en función del objeto de la administración, el tamaño del animal a tratar, el tipo de microorganismo que infecta el animal, y el grado de los síntomas, pero en general es preferible una dosis diaria de 1 a 200 mg, concretamente de 5 a 100 mg, por 1 kg de peso corporal del animal. La dosis diaria se administra una vez al día, o de dos veces a cuatro veces al día. La dosis diaria puede exceder de la cantidad antes mencionada, si es necesario.

El hemihidrato de acuerdo con la presente invención es activo contra una amplia gama de microorganismos que causan diversos tipos de enfermedades infecciosas, y el hemihidrato puede tratar, prevenir o aliviar las enfermedades causadas por tales microorganismos patógenos. Las bacterias y los microorganismos similares a bacterias contra los que es activo el compuesto de acuerdo con la presente invención pueden incluir: *Staphylococcus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus haemolyticus*, *Enterococcus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Peptostreptococcus*, *Gonococcus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Acinetobacter*, *Campylobacter*, y *Chlamydia trachomatis*.

Los ejemplos de enfermedades causadas por los agentes patógenos mencionados anteriormente pueden incluir: foliculitis, forúnculo, carbunco, erisipelas, celulitis, linfangitis, linfadenitis, panadizo, absceso subcutáneo, hidradenitis, acné conglobata, ateroma infeccioso, absceso perirectal, mastitis, infección secundaria superficial tal como trauma, quemadura térmica, o herida quirúrgica, laringofaringitis, bronquitis aguda, amigdalitis, bronquitis crónica, bronquiectasias, bronquitis panacinar difusa, infección secundaria por enfermedad crónica respiratoria, neumonía, pielonefritis, cistitis, prostatitis, epididimitis, uretritis gonocócica, uretritis no gonocócica, colecistitis, colangitis, disentería bacilar, enteritis, adnexitis uterina, infección intrauterina, bartolinitis, blefaritis, orzuelo, dacriocistitis, inflamación de las glándulas del tarso, úlcera de córnea, otitis media, sinusitis, periodontitis,

Además, los ejemplos de las bacterias resistentes a los ácidos contra las cuales es activo el compuesto de acuerdo con la presente invención pueden incluir: complejos de *Mycobacterium tuberculosis* tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* o *M. africanum*; complejos de micobacterias atípicas tales como *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. fortuitum*, o *M. chelonae*. Enfermedades infecciosas por bacterias resistentes a los ácidos causadas por estos patógenos se dividen principalmente por las bacterias dañinas en tres grupos: tuberculosis, enfermedad por micobacterias atípicas y lepra. Se observan enfermedades infecciosas por *Mycobacterium tuberculosis* en el pulmón, adicionalmente en la cavidad torácica, la tráquea, los bronquios, los ganglios linfáticos, el tipo diseminado sistémico, osteoarticular, meninges, cerebro, órganos digestivos tales como intestino o hígado, la piel, la glándula mamaria, el ojo, el oído medio, la faringe, el tracto urinario, los órganos genitales masculinos, los órganos genitales femeninos, etcétera. El principal órgano afectado por las enfermedades por micobacterias atípicas (enfermedades por micobacterias no tuberculosas) es el pulmón, y también incluye linfadenitis locales, tejidos blandos de la piel, osteoarticular, tipo diseminado sistémico etcétera.

Además, el hemihidrato de acuerdo con la presente invención es activo contra varios tipos de microorganismos que causan enfermedades infecciosas de origen animal, por ejemplo, *Escherichia*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, etcétera. Los ejemplos específicos de las enfermedades pueden incluir: en aves, colibacilosis, pulorosis, paratifoidea aviar, cólera aviar, coriza infecciosa, estafilococosis, infección por micoplasma, etcétera; en cerdos, colibacilosis, salmonelosis, pasteurelisis, infección por haemophilus, rinitis atrófica, epidermitis exudativa, infección por micoplasma, etcétera; en bovinos, colibacilosis, salmonelosis, septicemia hemorrágica, infección por micoplasma, pleuroneumonía contagiosa bovina, mastitis, etcétera; en caninos, sepsis coliforme, salmonelosis, sepsis hemorrágica, piometra, cistitis, etcétera; en felinos, pleuresía exudativa, cistitis, rinitis crónica, infección por haemophilus, diarrea de los gatitos, infección por micoplasma, etcétera.

En cuanto a un agente antibacteriano que contiene el hemihidrato de acuerdo con la presente invención, las preparaciones farmacéuticas adecuadas se pueden seleccionar dependiendo del método de administración, y se pueden preparar de acuerdo con el método de preparación utilizado para cada preparación farmacéutica. Los ejemplos de la forma de dosificación del agente antibacteriano que contiene el hemihidrato de acuerdo con la presente invención como ingrediente principal pueden incluir: comprimidos, polvos, gránulos, cápsulas, soluciones, jarabes, elixires, suspensiones oleosas o acuosas, etcétera. Para los inyectables, un agente de estabilización, un agente antiséptico, un agente solubilizante, etcétera pueden estar contenidos en la preparación. O la preparación que se va a preparar antes de su uso se puede fabricar para que contenga una solución que pueda incluir estos agentes en un recipiente y a continuación procesar la solución en preparaciones sólidas mediante liofilización etcétera. Además, puede estar contenida en el recipiente una dosis, o pueden estar contenidas en el mismo recipiente múltiples dosis. Los ejemplos de una preparación externa pueden incluir: solución, suspensión, emulsión, pomada, gel, crema, loción, pulverización, etcétera.

Las preparaciones sólidas pueden contener un agente aditivo farmacéuticamente aceptable junto con un compuesto activo. Los ejemplos del agente aditivo pueden incluir: agentes de carga, aglutinantes, disgregantes, promotores de la disolución, agentes humectantes, lubricantes, etcétera. Los ejemplos de las preparaciones líquidas pueden incluir soluciones, suspensiones, emulsiones, etcétera, y las preparaciones líquidas pueden contener además agentes de suspensión, agentes emulsionantes, etcétera.

Los ejemplos de formulación para las preparaciones farmacéuticas se muestran a continuación.

Ejemplo de Preparación 1

[Cápsula]:

Hemihidrato	100,0 mg
Almidón de maíz	23,0 mg
Carboximetilcelulosa de calcio	22,5 mg
Hidroximetilcelulosa	3,0 mg
Estearato de magnesio	1,5 mg
Total	150,0 mg

Ejemplo de Preparación 2

[Solución]:

Hemihidrato	1 a 10 g
Ácido acético o hidróxido de sodio	0,5 a 2 g
p-hidroxibenzoato de etilo	0,1 g
Agua Purificada	87,9 a 98,4 g
Total	100 g

Ejemplo de Preparación 3

5 [Polvo para mezclar con pienso animal]:

Hemihidrato	1 a 10 g
Almidón de maíz	89,5 a 98,5 g
Ácido silícico anhidro ligero	0,5 g
Total	100 g

Ejemplos

10 Se aquí en adelante la presente invención se explicará con los Ejemplos y Ejemplos de Referencia. Sin embargo, la presente invención se limita a los mismos.

[Ejemplo de Referencia 1]

15 1-Acetil-1-ciclopropanocarboxilato de terc-butilo

[Formula 7]



20 Una mezcla de acetoacetato de terc-butilo (497 mL, 3,00 moles), 1,2-dibromoetano (310 mL, 3,60 mmoles), carbonato de potasio (1,106 kg, 8,00 mmoles), y dimetilformamida (2,0 L) se calentó y se agitó en un baño de agua a 30°C durante 1,5 horas, en un baño de agua a 60°C durante 3,5 horas, y con posterioridad en un baño de agua a 30°C durante 4 días. La solución de reacción se filtró a través de celite, y el residuo se lavó con éter dietílico (3,5 L). El producto filtrado y los lavados en éter dietílico se combinaron y se añadieron a agua (2 L), para separar la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con éter dietílico (2 L) y se añadió agua a la capa acuosa (1 L). La capa acuosa
 25 obtenida de este modo se extrajo adicionalmente con éter de dietilo (2 L). Los todas las capas orgánicas se combinaron, y a continuación se lavaron con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico (2 L), agua (2 L, 3 veces) y salmuera saturada (2 L, 3 veces). A esta solución se le añadió sulfato de sodio anhidro para secar la solución. El agente de secado se retiró mediante filtración, y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se destiló a presión reducida, con lo que se obtuvieron 371,8 g del compuesto objetivo (fracción a 10 mmHg, y 72 a 78°C, 2,02 mol, 67%) en forma de un aceite transparente e incoloro.
 30

RMN H¹ (400 MHz, CDCl₃) ppm: 1,37-1,40 (4H, m), 1,49 (9H, s), 2,44 (3H, s).

[Ejemplo de Referencia 2]

35

1-(1-amino-1-cianoetil)-1-ciclopropanocarboxilato de terc-butilo

[Formula 8]



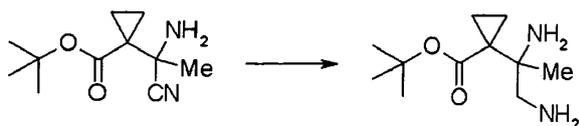
Se disolvió 1-acetil-1-ciclopropanocarboxilato de terc-butilo (9,21 g, 50,0 mmoles) en una solución 7 N de amoniaco/metanol (300 mL). A esta solución se le añadieron agua amoniacal concentrada (90 mL), cloruro de amonio (53,5 g, 1,00 mmoles), y cianuro de sodio (4,90 g, 100,0 mmoles) enfriando con hielo, y con posterioridad la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se concentró a presión reducida. A la solución restante se le añadió agua (100 mL), y con posterioridad se extrajo con diclorometano (300 mL y 100 mL x 2). A la capa orgánica combinada se le añadió sulfato de sodio anhidro para el secado. El agente de secado se retiró mediante filtración, y el disolvente se eliminó a presión reducida para obtener 10,15 g de un producto bruto del compuesto objetivo (48,3 mmoles, 97%) en forma de un aceite de color pardo claro. El producto bruto obtenido se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 1,2-1,12 (2H, m), 1,19-1,17 (2H, m), 1,48 (9H, s), 1,50 (3H, s), 2,13 (2H, s ancho). EM (ESI) m/z: 155⁻ (M-tBu)⁺.

[Ejemplo de Referencia 3]

1-(1,2-diamino-1-metiletil)-1-ciclopropanocarboxilato de terc-butilo

[Formula 9]



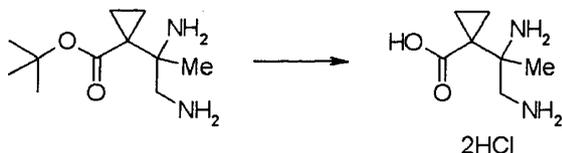
A una solución de etanol (50 mL) de 1-(1-amino-1-cianoetil)-1-ciclopropanocarboxilato de etilo (1,12 g, 5,30 mmoles) se añadió una suspensión en etanol (30 mL) de catalizador de níquel Raney (R-100 fabricado por NIKKO RICA CORPORATION, 10 mL), y la mezcla se agitó vigorosamente en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 6 horas. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de celite, y el disolvente se eliminó a presión reducida para obtener 0,84 g de un producto bruto del compuesto objetivo (3,92 mmoles, 74%) en forma de un aceite transparente e incoloro. El producto bruto obtenido se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

RMN ^1H (trifluoroacetato, 400 MHz, DMSO-d_6) ppm: 1,8-1,19 (5H, m), 1,21-1,27 (1H, m), 1,28-1,33 (1H, m), 1,39 (9H, s), 3,27 (1H, d, J = 12,9 Hz), 3,48 (1H, d, J = 13,4 Hz), 8,34 (6H, s ancho). EM (ESI) m/z: 215 (M + H)⁺.

[Ejemplo de Referencia 4]

1-(1,2-diamino-1-metiletil)-1-ciclopropanocarboxilato · dihidrocloruro

[Formula 10]



A temperatura ambiente, se disolvieron 0,82 g (3,83 mmoles) del producto bruto de 1-(1,2-diamino-1-metiletil)-1-ciclopropanocarboxilato de terc-butilo en ácido clorhídrico concentrado (5 mL), y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos. A la solución de reacción se le añadió agua, con posterioridad se eliminó el disolvente a presión reducida. Y a continuación la solución se sometió a azeotropía con etanol (dos veces). Como resultado, se obtuvieron 0,82 g de un producto bruto del compuesto objetivo (3,55 mmoles, 93%) en forma de un sólido espumoso de color amarillo claro. El producto bruto obtenido se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

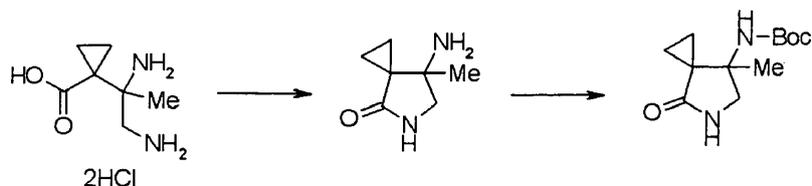
RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) ppm: 1,20-1,26 (1H, m), 1,28 (3H, s), 1,32-1,43 (2H, m), 1,58-1,62 (1H, m), 3,46 (1H, d, $J = 13,4$ Hz), 3,80 (1H, d, $J = 13,4$ Hz).
EM (ESI) m/z: 159 (M + H) $^+$.

5 [Ejemplo de Referencia 5]

7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-4-ona

[Formula 11]

10



15 A una solución en acetonitrilo (70 mL) del producto bruto (800 mg, 3,46 mmoles) de 1-(1,2-diamino-1-metiletil)-1-ciclopropanocarboxilato-dihidrocloruro se le añadió 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (7,38 mL, 34,6 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno en un baño de aceite a 100°C durante 4 horas. Después, la solución se enfrió a temperatura ambiente, y a la solución se le añadió metanol (70 mL). Después de eso, el disolvente se eliminó a presión reducida. De este modo se obtuvo un producto bruto de 7-amino-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptan-4-ona en forma de sólido gomoso de color pardo. EM (ESI) m/z: 141 (M + H) $^+$.

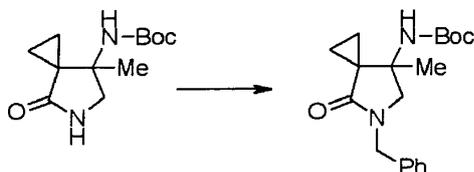
20 Al producto bruto obtenido de ese modo de 7-amino-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptan-4-ona se le añadieron 1,4-dioxano (20 mL) y dicarbonato de di-terc-butilo (1,528 g, 7,00 mmoles) a temperatura ambiente. Y esta mezcla se agitó a la misma temperatura durante 5 horas. A esta mezcla de reacción se le añadió agua (50 mL), y se extrajo con cloroformo (100 mL y 50 mL). A la capa orgánica combinada se le añadió sulfato de sodio anhidro para el secado. El agente de secado se retiró mediante filtración con una columna corta de gel de sílice, y a continuación el disolvente se eliminó a presión reducida. Al residuo obtenido de este modo se le añadió éter dietílico para ser suspenderlo, y esta suspensión se filtró para obtener 502 mg (2,09 mmoles, 2 etapas, 60%) del compuesto objetivo en forma de polvo de color blanco.

30 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,77-0,82 (1H, m), 0,94-1,04 (2H, m), 1,16-1,23 (1H, m), 1,28 (3H, s), 1,43 (9H, s), 3,29 (1H, d, $J = 10,3$ Hz), 4,12 (1H, m), 4,60 (0,9 H, s ancho), 5,82 (1H, s ancho).
EM (ESI) m/z: 185 (M-tBu) $^+$.

[Ejemplo de Referencia 6]

35 5-Bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino) -7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-4-ona

[Formula 12]



40 A una solución en dimetilformamida (65 mL) de ácido 7 (terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptan-4-ona (3,12 g, 12,97 mmoles) se le añadió hidruro de sodio (55%, dispersión en aceite mineral, 538 mg, 12,33 mmoles) durante 5 minutos enfriando con hielo. Esta solución se agitó a la misma temperatura durante 40 minutos. Después de eso, a la solución se le añadió bromuro de bencilo (1,851 mL, 15,56 mmoles), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. A esta mezcla de reacción se le añadió acetato de etilo (300 mL) para diluir la mezcla, y la mezcla se lavó con agua (100 mL, x2) y salmuera saturada (100 mL). A la solución se le añadió sulfato de sodio anhidro para secar la solución. El agente de secado se retiró mediante filtración, y a continuación el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo así obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo a una razón y un orden de 9:1, 4:1, y 2:1) para obtener 4,20 g (12,71 mmoles, 98%) del compuesto diana en forma de un sólido gomoso transparente e incoloro.

50 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,76-0,81 (1H, m), 0,93-1,06 (2H, m), 1,21-1,29 (4H, m), 1,37 (9H, m), 3,14 (1H, d, $J = 10,3$ Hz), 3,92-3,98 (1H, m), 4,44 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,56 (1H, d, $J = 14,6$ Hz), 4,56 (1H, s ancho), 7,22-7,33

(5H, m). EM (ESI) m/z: 331 (M + H)⁺.

[Ejemplo de Referencia 7]

- 5 (-)-5-Bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptan-4-ona y (+)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaspiro[2,4]heptan-4-ona

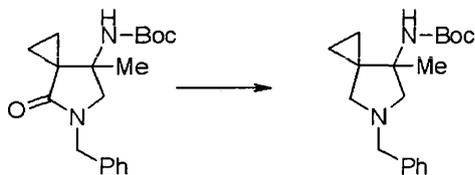
La mezcla racémica de 5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-4-ona (2,254 g, 6,82 mmoles) obtenida en el Ejemplo de Referencia 6 se sometió a resolución óptica con una columna ópticamente activa (Chiralpak AD, 20 mm de diámetro x 250 mm, hexano/alcohol isopropílico a una razón de 90 a 10, velocidad de flujo = 20 mL/minuto, 50 mg se sometió a resolución óptica una vez) para obtener (-)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-4-ona (997 mg, 3,02 mmoles, tiempo de retención = 7,0 minutos, $[\alpha]_D^{25.1} = -113,9^\circ$ (c = 0,180, cloroformo)); y (+)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-4-ona (957 mg, 2,90 mmoles, tiempo de retención = 11,3 minutos, $[\alpha]_D^{25.1} = +108,8^\circ$ (c = 0,249, cloroformo)).

[Ejemplo de Referencia 8]

(-)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptano

20

[Formula 13]



A una solución en diclorometano (15 mL) de la (-)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptan-4-ona (950 mg, 2,88 mmoles) se le añadió ácido trifluoroacético (7,5 mL) a temperatura ambiente, y se agitó a la misma temperatura durante 40 minutos. El disolvente se eliminó a presión reducida, y la solución se sometió a azeotropía con tolueno (dos veces). Después de eso, a esta solución se le añadió una solución acuosa saturada (30 mL) de bicarbonato de sodio, y la mezcla se extrajo con cloroformo (100 mL y 50 mL x 2). A la capa orgánica combinada se le añadió sulfato de sodio anhidro para secar la solución. El agente de secado se retiró mediante filtración, y a continuación el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se disolvió en tetrahidrofurano (30 mL), a esta solución se le añadió hidróxido de litio y aluminio (218 mg, 5,74 mmoles) con agitación enfriando con hielo, y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Además, a esta solución se le añadió hidróxido de litio y aluminio (109 mg, 2,87 mmoles), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Después de eso, esta solución se enfrió con hielo y a esta solución se le añadieron con precaución agua (0,31 mL), una solución acuosa al 15% (0,31 mL) de hidróxido de sodio y agua (0,93 mL) sucesivamente. La mezcla obtenida de este modo se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Y a continuación, a esta mezcla se le añadió sulfato de sodio anhidro para secar la mezcla, y la mezcla se filtró a través de celite. El producto filtrado se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto de 7-amino-5-bencil-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptano en forma de un aceite transparente e incoloro. El producto bruto obtenido se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

40

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) ppm: 0,37-0,45 (2H, m), 0,56-0,66 (2H, m), 0,96 (3H, s), 2,48 (1H, d, J = 9,0 Hz), 2,55 (1H, d, J = 8,8 Hz), 2,74 (2H, d, J = 9,0 Hz), 3,59 (2H, s), 7,21-7,37 (5H, m).
EM (ESI) m/z: 217 (M + H)⁺.

45 El producto en bruto obtenido de este modo de 7-amino-5-bencil-7-metil-5-aza-espiro[2,4]heptano se disolvió en diclorometano (15 mL), y a esta solución se le añadió dicarbonato de di-terc-butilo (1,255 g, 5,75 mmoles), y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/metanol/trietilamina a una razón de 98:2:1 y a continuación 95:5:1) para obtener 586 mg (1,852 mmoles, 3 etapas, 64%) del compuesto objetivo en forma de un sólido gomoso transparente e incoloro.

50

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) ppm: 0,40-0,45 (1H, m), 0,50-0,55 (1H, m), 0,63-0,69 (1H, m), 0,80-0,85 (1H, m), 1,20 (3H, s), 1,43 (9H, s), 2,44 (1H, d, J = 8,8 Hz), 2,59 (1H, d, J = 9,5 Hz), 2,83 (1H, d, J = 8,8 Hz), 3,33 (1H, m), 3,57 (1H, d, J = 13,2 Hz), 3,68 (1H, d, J = 13,2 Hz), 4,75 (1H, s ancho), 7,20-7,37 (5H, m).

55

EM (ESI) m/z: 317 (M + H)⁺.
 $[\alpha]_D^{25.1} = -63,6^\circ$ (c = 0,129, cloroformo)

[Ejemplo de Referencia 9]

(-)-7-(Terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptano

[Formula 14]



5

A una solución en metanol (40 mL) de (-)-5-bencil-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptano (581 mg, 1,836 mmoles) se le añadió catalizador de paladio sobre carbono al 10% (M, contenido de agua de aproximadamente 50%, 349 mg), y la mezcla se agitó durante 2,5 horas a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno. El catalizador se eliminó mediante filtración, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Como resultado, se obtuvieron 434 mg (cuantitativo) de un producto en bruto del compuesto objetivo en forma de un sólido gomoso transparente e incoloro.

10

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,38-0,43 (1H, m), 0,55-0,60 (2H, m), 0,74-0,80 (1H, m), 1,08 (3H, s), 1,44 (9H, s), 2,75 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), 2,77 (1H, d, $J = 11,5$ Hz), 3,13 (1H, d, $J = 11,5$ Hz), 3,75 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), 4,44 (1H, s ancho).

15

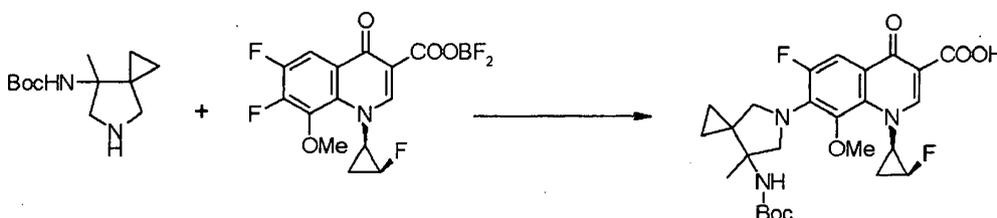
EM (ESI) m/z: 227 (M + H) $^+$.

$[\text{A}]_{\text{D}}^{25,1} = -63,5^\circ$ (c = 0,277, cloroformo)

20 [Ejemplo de Referencia 10]

Ácido 7-[7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico

[Formula 15]



25

En dimetilsulfóxido (5 mL) se disolvió el producto bruto de (-)-7 (terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptano (434 mg, 1,836 mmoles) obtenido en el Ejemplo de Referencia 9; complejo de ácido 6,7-difluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico-difluoroboro (663 mg, 1,836 mmoles); y trietilamina (0,768 mL, 5,510 mmoles). Y esta solución se calentó y se agitó en un baño de aceite a 40°C durante 14 horas. A esta solución de reacción se añadió una mezcla disolvente (50 mL) de etanol y agua a una razón de 4 a 1, y trietilamina (5 mL). Y esta solución se calentó a reflujo en un baño de aceite a 100°C durante 2 horas. La solución de reacción se concentró a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo (200 mL) y se lavó con solución acuosa al 10% de ácido cítrico (50 mL), agua (50 mL, x2), y salmuera saturada (50 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. A continuación el disolvente se eliminó a presión reducida para obtener 870 mg de un producto bruto del compuesto objetivo (1,676 mmoles, 91%) en forma de un sólido espumoso de sólido amarillo.

30

35

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,55-0,60 (1H, m), 0,68-0,73 (1H, m), 0,74-0,80 (1H, m), 0,92-0,97 (1H, m), 1,22 (3H, s), 1,40 (9H, s), 1,43-1,59 (2H, m), 3,13 (1H, d, $J = 9,8$ Hz), 3,60 (3H, s), 3,75 (1H, dd, $J = 11,0, 3,7$ Hz), 3,85 (1H, dt, $J = 10,2, 4,5$ Hz), 4,18 (1H, d, $J = 10,0$ Hz), 4,47 (1H, m), 4,62 (1H, s), 4,79-4,99 (1H, dm), 7,83 (1H, d, $J = 13,7$ Hz), 8,68 (1H, d, $J = 2,7$ Hz), 14,88 (0,7 H, s ancho).

40

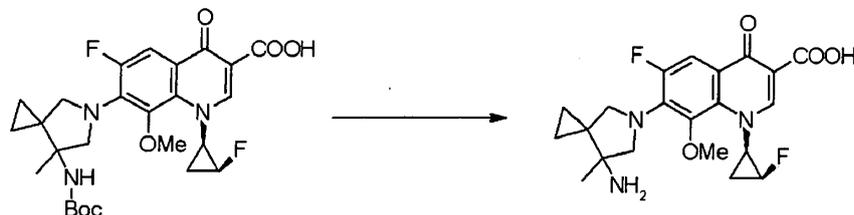
EM (ESI) m/z: 520 (M + H) $^+$.

$[\text{A}]_{\text{D}}^{25,1} = -128,5^\circ$ (c = 1,240, cloroformo)

45

[Ejemplo de Referencia 11]

Ácido 7-(7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il)-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico



El ácido 7-[7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il)-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico (870 mg, 1,676 mmoles) obtenido en el Ejemplo de Referencia 10 se disolvió en ácido clorhídrico concentrado (10 mL) enfriando con hielo, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos, y esta solución de reacción se lavó con cloroformo (20 mL, x5). A la capa acuosa se le añadió una solución acuosa saturada de hidróxido de sodio enfriando con hielo, elaborando de este modo la solución que tenía pH 12,0. Con posterioridad, esta solución se ajustó con ácido clorhídrico para que tuviera pH 7,4. Después de eso, la capa orgánica se extrajo con una mezcla disolvente de cloroformo y metanol a una razón de 10:1 (200 mL, x2), y con una capa inferior de una solución de cloroformo, metanol y agua a una razón de 7:3:1 (200 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante recristalización en etanol, se secó a presión reducida para obtener 644 mg (1,535 mmoles, 92%) del compuesto del título en forma de un polvo de color rosa claro.

pf: 195-200°C

$d_{25}^{25,1} = +40,8^{\circ}(c = 0,147, \text{NaOH } 0,1\text{N})$.

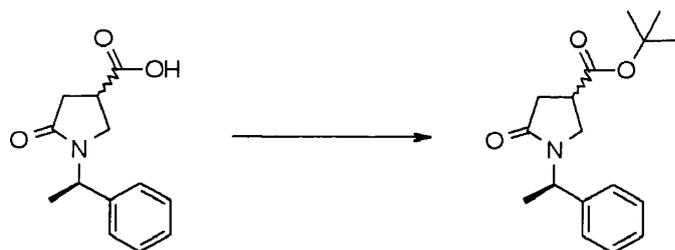
RMN ^1H (400 MHz, NaOD 0,1 N) δ ppm: 0,49-0,56 (2H,m), 0,67-0,76 (2H,m), 1,12 (3H,s), 1,43, 1,64 (2H,m), 3,56 (3H,s), 3,59-3,71(4H,m), 3,99-4,04 (1H,m), 4,80-5,03(1H,m), 7,65 (1H, d, J=13,9 Hz), 8,45 (1H, s). Análisis elemental para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4 \cdot 0,75 \text{EtOH} \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$; Valor calculado: C, 58,37; H, 6,20; F, 8,21; N, 9,08. Valor real: C, 58,23; H, 5,99; F, 8,09; N, 9,02. EM (EI) m/z: 419 (M^+).

IR (ATR): 2964, 2843, 1726, 1612, 1572, 1537, 1452, 1439, 1387, 1360, 1346, 1311, 1294, 1265, 1207 cm^{-1} .

[Ejemplo de Referencia 12]

5-Oxo-1-[(1R)-1-feniletíl]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo

[Formula 17]



A una suspensión en diclorometano (10 L) de ácido 5-oxo-1-[(1R)-1-feniletíl]pirrolidin-3-carboxílico (1,165 g, 4,994 moles) se le añadió o-terc-butil-N,N'-diisopropilurea (3020 g, 15,00 moles) a temperatura ambiente agitando con una paleta. Después que se observaron el aumento de la temperatura interna y comienzo de reflujo, la solución se enfrió en un baño de agua con hielo. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, con posterioridad se retiró el baño de agua con hielo y la solución se agitó durante una hora, y después calentando la solución a 40°C durante 3 horas. Después de eso, esta solución de reacción se enfrió en un baño de agua con hielo y se agitó durante una hora. Con posterioridad, un material insoluble se eliminó mediante filtración, y el producto filtrado se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gel de sílice: 4 kg; eluyente: hexano/acetato de etilo a una razón de 3:1) para obtener 925,2 g (64%) del compuesto del título (mezcla con el isómero de la posición 3) en forma de un jarabe de color amarillo claro. Cada diastereómero derivado de la posición 3 de la pirrolidina fue susceptibles de ser fraccionado fácilmente; sin embargo, el compuesto se utilizó sin fraccionar los diastereómeros debido a que la etapa subsiguiente es una reacción que implica epimerización. El espectro de RMN ^1H de cada isómero que se fraccionó por separado se muestra a continuación.

Isómero de Baja Polaridad:

RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: 1,45 (9H, s), 1,54 (3H, d, $J = 7,08$ Hz), 2,59-2,74 (2H, m), 2,95-3,03 (1H, m), 3,14 (1H, dd, $J = 9,77, 8,79$ Hz), 3,49 (1H, dd, $J = 9,77, 6,35$ Hz), 7,26-7,36 (5H, m).

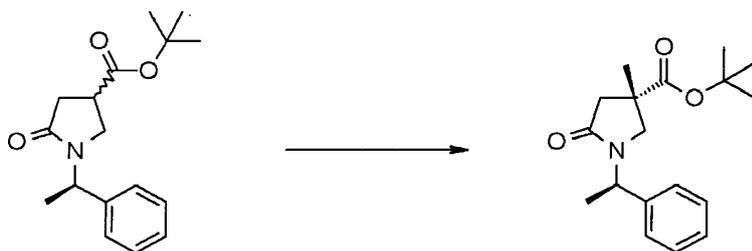
Isómero de Alta Polaridad:

RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: 1,36 (9H, s), 1,53 (3H, d, $J = 7,32$ Hz), 2,59-2,75 (2H, m), 3,2-3,11 (1H, m), 3,16 (1H, dd, $J = 10,01, 5,62$ Hz), 3,51 (1H, dd, $J = 10,01, 8,54$ Hz), 7,24-7,36 (5H, m).

[Ejemplo de Referencia 13]

(3S)-3-Metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo

[Formula 18]



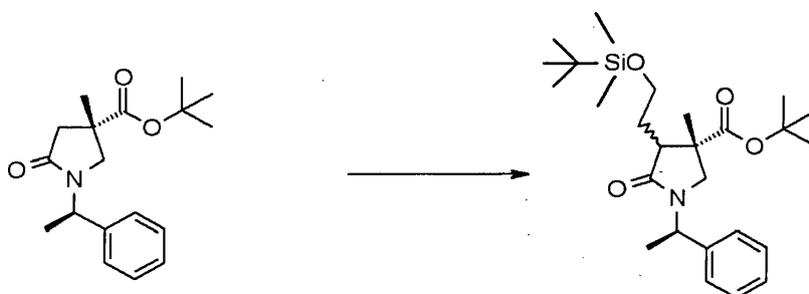
En atmósfera de nitrógeno, a una solución en N,N'-dimetilformamida (210 mL) de 5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo (30,05 g, 0,104 moles) se añadieron 26,0 mL de yodometano (59,28 g, 0,418 moles), con posterioridad hidruro de sodio (oleoso al 55%, 11,35 g, 0,260 moles) agitando la solución a temperatura ambiente. Cuando la temperatura interna alcanzó aproximadamente 50°C, la solución se enfrió a 30°C en un baño de agua con hielo, después se agitó durante 23 horas en un baño de agua que tenía una temperatura externa de 17°C. Esta solución de reacción se vertió en una solución acuosa fría de ácido cítrico (mezcla acuosa de 1 L de ácido cítrico al 10% y 500 g de agua con hielo), se agitó durante 30 minutos, y a continuación se extrajo con acetato de etilo (800 mL y 500 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada, con posterioridad se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, y el producto filtrado se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea de gel de sílice (hexano/acetato de etilo a una razón de 5:1 y, a continuación 4:1 partes eluidas) para obtener 10,63 g (33,7%) del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco en forma de un isómero de alta polaridad: y 14,91 g (47,3%) de (3R)-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo, un isómero de baja polaridad.

RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: 1,34 (12H, s), 1,52 (3H, d, $J = 7,10$ Hz), 2,27 (1H, d, $J = 17,0$ Hz), 2,93 (1H, d, $J = 17,0$ Hz), 3,05 (1H, d, $J = 10,1$ Hz), 3,32 (1H, d, $J = 10,1$ Hz), 5,50 (1H, c, $J = 7,1$ Hz), 7,23-7,38 (5H, m).

[Ejemplo de Referencia 14]

(3S)-4-[2-(terc-butildimetilsilil)hidroxietil]-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo

[Formula 19]



A una solución en tetrahidrofurano anhidro (288 mL) de (3S)-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato (30,0 g, 98,9 mmoles) y terc-butil-(2-yodoetoxi)dimetilsilano (36,8 g, 129 mmoles) se le añadió gota a gota bis(trimetilsilil)amidiuro de litio (solución 1,0 M en tetrahidrofurano, 129 mL, 129 mmoles) a -4°C, y se agitó a 2°C durante 3,5 horas. A esta solución de reacción se le añadió una solución saturada (300 mL) de cloruro de amonio, y la capa orgánica se extrajo con acetato de etilo (300 mL, y 200 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera

saturada (200 mL), con posterioridad se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el producto filtrado se secó a presión reducida para obtener 54,1 g del compuesto del título. Incidentemente, este producto se usó en la etapa subsiguiente sin purificación.

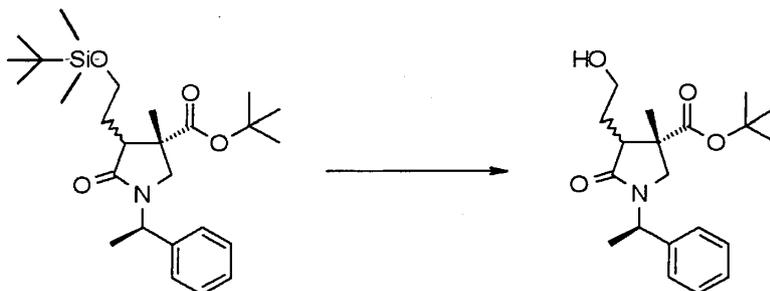
EM (ESI) m/z: 363 (M-Boc + H)⁺.

5

[Ejemplo de Referencia 15]

(3S)-4-(2-hidroxietil)-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo

[Formula 20]



10

El producto en bruto del compuesto de sililo (54,1 g, 98,9 mmoles) antes mencionado se disolvió en tetrahidrofurano (450 mL). A esta solución se le añadió gota a gota una solución en tetrahidrofurano de 1,0 mol/L (148 mL, 148 mmoles) de fluoruro de tetrabutilamonio enfriando con hielo, y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se concentró y la capa orgánica se extrajo con acetato de etilo (200 mL, y 100 mL). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa al 10% (200 mL) de bicarbonato de sodio, una solución acuosa de ácido cítrico (300 mL) y salmuera saturada (100 mL), con posterioridad se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el producto filtrado se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo a una relación de y en el orden de 6:1, 4:1, y 1:1 partes eluidas) para obtener 29,1 g (83,9 mmoles, 85%) del compuesto del título en forma de una sustancia parecida a jarabe transparente e incolora.

15

20

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) ppm: 1,28 (3H, s), 1,40 (9H, s), 1,51-1,53 (1H, m), 1,53 (3H, d, J = 7,1 Hz), 1,78-1,94 (2H, m), 2,90-3,08 (2H, m), 3,67-3,75 (1H, m), 3,80-3,91 (1H, m), 4,85-4,89 (1H, m), 5,43-5,53 (1H, m), 7,27-7,37 (5H, m)

25

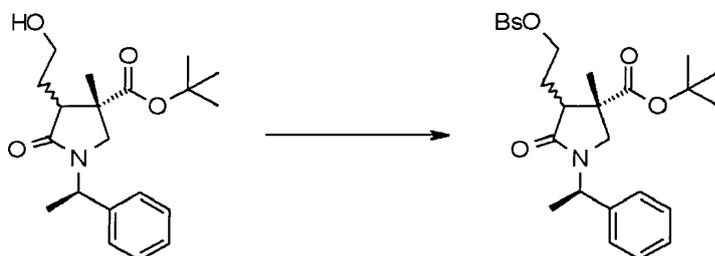
EM (ESI) m/z: 348 (M + H)⁺.

[Ejemplo de Referencia 16]

30

(3S)-4-[2-(bencenosulfonil)oxietil]-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-1-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo

[Formula 21]



35

A una solución en diclorometano (280 mL) de (3S)-4-(2-hidroxietil)-3-metil-5-oxo-1-[(1R)-feniletil]pirrolidin-3-carboxilato de terc-butilo (29,1 g, 83,9 mmoles) se le añadieron trietilamina (15,2 mL, 109 mmoles), cloruro de bencenosulfonilo (11,8 mL, 92,3 mmoles) y 4-dimetilaminopiridina (1,02 g, 8,39 mmoles) enfriando con hielo. Y esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 19 horas. A esta solución de reacción se le añadió una solución saturada (280 mL) de cloruro de amonio, y la capa orgánica se separó, y el disolvente se eliminó de la misma a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo (280 mL y 180 mL), y se lavó de nuevo con la solución saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de 1 mol/L (250 mL) de ácido clorhídrico, una solución acuosa saturada (250 mL) de bicarbonato de sodio, y salmuera saturada (200 mL). Después de eso, la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró; y el producto filtrado se

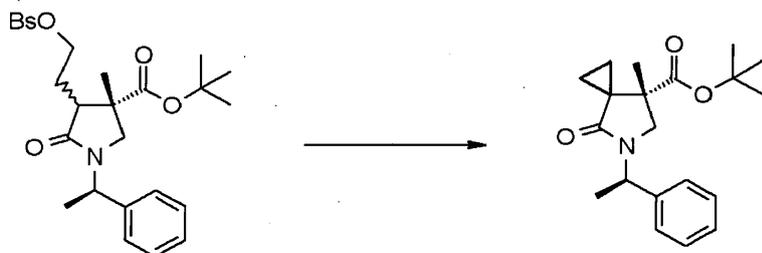
40

secó a presión reducida para obtener un producto bruto del compuesto de bencenosulfonilo (43,7 g) del título. Este producto se usó en la siguiente etapa sin purificación.
EM (ESI) m/z: 510 (M + Na)⁺.

5 [Ejemplo de Referencia 17]

(7S)-7-Metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletíl]-5-azaespiro[2,4]heptano-7-carboxilato de terc-butilo

[Formula 2.2]



10 A una solución en tetrahidrofurano anhidro (470 mL) del producto bruto del compuesto de bencenosulfonilo (43,7 g, 83,9 mmoles) se le añadió una solución en tetrahidrofurano de 1,0 mol/L (109 mL, 109 mmoles) de bis(trimetilsilil)amidiuro de sodio de enfriando con hielo. Y esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A esta solución de reacción se le añadió una solución saturada (300 mL) de cloruro de amonio, y la capa orgánica se extrajo con acetato de etilo (300 mL y 200 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera saturada (200 mL), con posterioridad se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el producto filtrado se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyendo con hexano/acetato de etilo a una razón de 3: 1 y después 2:1) para obtener 24,6 g (89%, 2 etapas) del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco.

20 pf: 55-57°C
[α]_D²⁵ = 122,1° (c = 0,517, CHCl₃).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) ppm: 0,72-0,77 (1H, m), 0,85-0,90 (1H, m), 1,4, 1,13 (2H, m), 1,18 (3H, s), 1,32 (9H, s), 1,54 (3H, d, J = 7,1 Hz), 3,08 (1H, d, J = 9,8 Hz), 3,53 (1H, d, J = 9,8 Hz), 5,52 (1H, c, J = 7,1 Hz), 7,26-7,34 (5H, m).

25 Análisis elemental para C₂₀H₂₇NO₃:

Valor calculado: C, 72,92; H, 8,26; N, 4,25.

Valor real: C, 72,64; H, 8,27; N, 4,06.

EM (FAB) m/z: 330 (M + H)⁺.

HREM (FAB) m/z: 330,2069 (Calculado para C₂₀H₂₈NO₃330,2069).

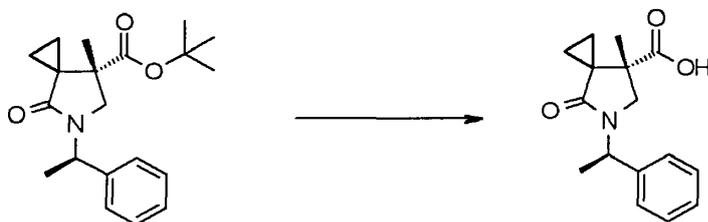
30 IR (ATR) v: 3066, 2976, 2933, 2879, 1720, 1676, 1481, 1454, 1433, 1365, 1329, 1286, 1238, 1203 cm⁻¹.

35 Para el compuesto, se llevó a cabo el análisis estructural de rayos X con el fin de determinar la configuración en la posición 7. Después de recoger los datos, la fase inicial se determinó por medio del método directo, y la fase se determinó con precisión por medio del método de mínimos cuadrados de matriz completa. Cuando la fase se determinó precisamente, se aplicó a átomos distintos de hidrógeno un factor de temperatura anisótropo, y los átomos de hidrógeno localizaron mediante cálculo para fijar sus coordenadas. El compuesto tiene 2 átomos de carbono asimétricos, y la posición absoluta de uno de los átomos de carbono era conocida. Basándose en la posición absoluta, se determinó la posición absoluta de otro átomo de carbono asimétrico. Por lo tanto, se estableció que la configuración en la posición 7 del compuesto del título era (S), a partir de lo cual se determinó también la configuración de una serie de compuestos preparados mediante el compuesto del título.

[Ejemplo de Referencia 18]

45 Ácido (7S)-7-metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletíl]-5-azaespiro[2,4]heptano-7-carboxílico

[Formula 23]



5 A una solución en diclorometano (120 mL) del (7S)-7-metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletil]-5-azaespiro[2,4]heptano-7-carboxilato de terc-butilo (24,5 g, 74,4 mmoles) se le añadió gota a gota ácido trifluoroacético (120 mL) enfriando con hielo, y la mezcla se agitó durante 2 horas. Esta mezcla de reacción se secó a presión reducida. Al residuo obtenido de este modo se le añadió tolueno (20 mL), y se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se disolvió en una solución acuosa de 1 mol/L (300 mL) de hidróxido de sodio enfriando con hielo. Esta solución acuosa se lavó con acetato de etilo (350 mL), y la solución se ajustó a pH 2 a 3 mediante la adición de ácido clorhídrico concentrado (25 mL) a la capa acuosa enfriando con hielo. Y la capa orgánica se extrajo con cloroformo (300 mL x 2).

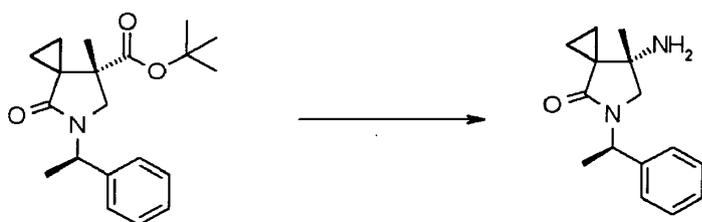
15 La capa orgánica se lavó con agua (200 mL) y salmuera saturada (100 mL), con posterioridad se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Al residuo obtenido de este modo se le añadió tolueno (20 mL), y la mezcla se secó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se suspendió en cloroformo (20 mL), y a esto se le añadió hexano (200 mL), y se sometió a cristalización. El sólido precipitado se lavó con hexano (100 mL) y se secó a presión reducida para obtener 20,48 g (cuantitativo) del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. Este producto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

20 RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: 0,78-0,83 (1H, m), 0,90-0,95 (1H, m), 1,8, 1,18 (2H, m), 1,24 (3H, s), 1,55 (3H, d, J = 7,3 Hz), 3,11 (1H, d, J = 10,0 Hz), 3,55 (1H, d, J = 10,0 Hz), 5,52 (1H, c, J = 7,1 Hz), 7,28-7,32 (5H, m).
EM (ESI) m/z: 274 (M + H)⁺

[Ejemplo de Referencia 19]

25 (7S)-7-amino-7-metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletil]-5-azaespiro[2,4]heptano

[Formula 24]



30 Se añadió trietilamina (20,7 mL, 149 mmoles) a una solución en tolueno (200 mL) de ácido (7S)-7-metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletil]-5-azaespiro[2,4]heptano-7-carboxílico (20,4 g, 74,4 mmoles) y azida de ácido difenilfosfórico (17,6 mL, 81,8 mmoles) y se calentó y se agitó en un baño de aceite a 125°C durante 1 hora. Esta solución de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto de un compuesto isocianato.

35 El compuesto isocianato obtenido de este modo se disolvió en 1,4-dioxano (180 mL), y agua (90 mL) y a esto se le añadió ácido clorhídrico concentrado (90 mL). Y esta solución se calentó y se agitó en un baño de aceite a 50°C durante 1 hora. A esta solución de reacción se le añadió agua (200 mL), y la solución se lavó con acetato de etilo (200 mL). Y la solución se ajustó para que tuviera un pH de 9 a 10 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido sódico de 10 mol/L (170 mL) a la capa acuosa. Y la capa orgánica se extrajo con tolueno (200 mL x 2). La capa orgánica se lavó con salmuera saturada (100 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y el producto filtrado se secó a presión reducida para obtener 15,8 g (64,7 mmoles) del compuesto del título en forma de un material oleoso de color amarillo claro. Este producto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

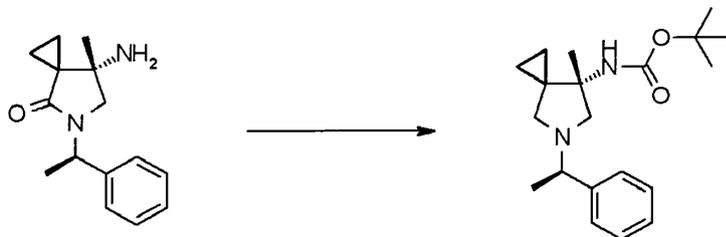
40 RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) ppm: 0,72-0,78 (2H, m), 0,99-1,10 (2H, m), 1,08 (3H, s), 1,53 (3H, d, J = 7,4 Hz), 2,82 (1H, d, J = 9,6 Hz), 3,27 (1H, d, J = 9,6 Hz), 5,56 (1H, c, J = 7,1 Hz), 7,14-7,37 (5H, m).

45

[Ejemplo de Referencia 20]

(7S)-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-[(1R)-feniletíl]-5-azaespiro[2,4]heptano

[Formula 25]



5

El (7S)-7-amino-7-metil-4-oxo-5-[(1R)-feniletíl]-5-azaespiro[2,4]heptano (15,8 g, 64,7 mmoles) se disolvió en tolueno (82 mL). Mientras esta solución se enfriaba con hielo de manera que su temperatura interna no excediera de 70°C, a esta solución se le añadió gota a gota una solución en tolueno (6 mL) de una solución en tolueno (77,6 mL, 259 mmoles) de una solución al 65% (en peso) de hidruro sodio y bis(2-metoxietoxi)aluminio a lo largo de 15 minutos. Después de eso, la solución se calentó y se agitó en un baño de aceite a 80°C durante 10 minutos. Esta solución de reacción se enfrió con hielo, y se añadió gota a gota a la misma una solución acuosa al 25% (en peso) de hidróxido de sodio (158 mL) para interrumpir la reacción. Y la capa orgánica se extrajo con tolueno (135 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera saturada (100 mL), y después se añadió a la misma dicarbonato de di-terc-butilo (15,6 g, 71,2 mmoles). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyendo con hexano/acetato de etilo a una razón de y en el orden de 8:1, 4:1, y 1:1) para obtener 18,0 g (73%) del compuesto del título como una sustancia parecida a jarabe transparente e incolora.

10

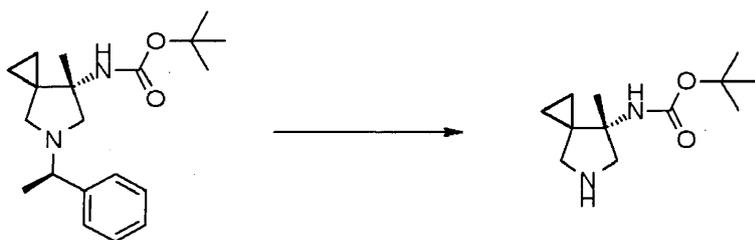
15

20 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,37-0,49 (2H, m), 0,62-0,68 (1H, m), 0,77-0,82 (1H, m), 1,20 (3H, s), 1,32 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,44 (9H, s), 2,46 (2H, dd, J = 33,2, 9,3 Hz), 2,68 (1H, d, J = 8,8 Hz), 3,27 (1H, c, J = 6,6 Hz), 3,31-3,34 (1H, m), 4,71 (1H, s), 7,19-7,34 (5H, m).
EM (ESI) m/z: 331 (M + H) $^+$.

25 [Ejemplo de Referencia 21]

(7S)-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptano

[Formula 26]



30

A una solución en metanol (180 mL) de (7S)-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-[(1R)-feniletíl]-5-azaespiro[2,4]heptano (18,0 g, 54,5 mmoles) se le añadió catalizador de paladio sobre carbono al 10% (contenido de agua de 52,8%, 9,00 g). Y esta solución se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno durante 18 horas y además se agitó durante 5,5 horas en un baño de aceite a 40°C. El catalizador se eliminó mediante filtración, y el disolvente se secó a presión reducida para obtener 13,4 g (cuantitativo) de un producto bruto del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco.

35

40 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) ppm: 0,38-0,43 (1H, m), 0,54-0,61 (2H, m), 0,74-0,80 (1H, m), 1,08 (3H, s), 1,44 (9H, s), 2,75 (1H, d, J = 7,6 Hz), 2,78 (1H, d, J = 7,1 Hz), 3,13 (1H, d, J = 11,5 Hz), 3,73-3,77 (1H, m), 4,45 (1H, s).
EM (ESI) m/z: 227 (M + H) $^+$.

[Ejemplo de Referencia 22]

Ácido 7-[(7S)-7-Amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-

dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico

[Formula 27]



5 En dimetilsulfóxido (52 mL) se disolvió (7S)-7-(terc-butoxicarbonilamino)-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptano (13,4 g, 54,5 mmoles); complejo de ácido 6,7-difluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico-difluoroborano (17,9 g, 49,5 mmoles); y trietilamina (8,97 mL, 64,4 mmoles). Y esta solución se calentó y se agitó en un baño de aceite a 40°C durante 17 horas. Esta solución de reacción se vertió en agua fría (1000 mL) y el sólido precipitado se filtró. A este sólido se le añadió una mezcla disolvente (180 mL) de etanol y agua en una
10 proporción de 5 a 1, y trietilamina (15 mL); y esta solución se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se secó a presión reducida y el residuo obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo (150 mL x 2), y se lavó con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico (200 mL), agua (200 mL), y salmuera saturada (100 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo obtenido de este modo se disolvió en una mezcla disolvente (100 mL) de cloroformo y metanol a una
15 razón de 9 a 1, se añadió a esto gel de sílice (10 g), y se agitó durante 1 hora. El gel de sílice se separó mediante filtración, y la solución se lavó con una mezcla disolvente (50 mL x 2) de cloroformo y metanol a una razón de 9 a 1. El producto filtrado se combinó, se concentró y se secó. Este residuo se disolvió en ácido clorhídrico concentrado (200 mL) enfriando con hielo, con posterioridad se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, y la solución de reacción se lavó con cloroformo (400 mL x 5). A la capa acuosa se le añadió una solución acuosa de 10 mol/L de hidróxido de sodio enfriando con hielo, elaborando de ese modo la solución que tenía pH 11,8. Con posterioridad, esta solución se ajustó con ácido clorhídrico para tener pH 7,4. Después de eso, la capa orgánica se extrajo con cloroformo (100 mL x 3). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. A continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante recristalización en etanol, se secó a presión reducida para obtener 18,5 g (79%) del compuesto del título en forma de un polvo de color rosa claro.

25 Los datos de este producto obtenidos con dispositivos como RMN H¹ fueron perfectamente idénticos a los datos del compuesto del Ejemplo de Referencia 11. Es decir, se estableció que, en los derivados de quinolona que tienen un grupo 7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-ilo, el derivado de quinolona mencionado en el Ejemplo de Referencia 11, que muestra alta actividad, tiene una configuración estérica (7S) en la posición 7 del grupo 5-azaespiro[2,4]heptan-5-ilo.
30

[Ejemplo de Ensayo 1]

35 La actividad antibacteriana del hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) se midió de acuerdo con procedimientos convencionales designados por Sociedad Japonesa de Quimioterapia, y los resultados obtenidos se muestran mediante CIM (mg/ml) en la Tabla 1. Entre las cepas en la Tabla 1, *S. aureus*, 87037 y *S. pneumoniae*, J24 son resistentes a las quinolonas. Los valores de CIM para la levofloxacina (LVFX), la gatifloxacina (GTFX), y la ciprofloxacina (CPFX) se muestran también en la Tabla 1.

40 [Tabla 1]

	Hemihidrato	LVFX	GTFX	CPFX
<i>E. coli</i> NIHJ	0,025	0,012	0,006	≤0,00 3
<i>P. vulgaris</i> , 08601	0,025	0,012	0,006	≤0,00 3
<i>S. marscecens</i> , 10100	0,1	0,1	0,1	0,025
<i>P. aeruginosa</i> , 32104	0,39	0,2	0,2	0,05
<i>P. aeruginosa</i> , 32121	0,2	0,1	0,1	0,025
<i>S. aureus</i> , 209P	0,025	0,2	0,05	0,1
<i>S. epidermidis</i> , 56500	0,1	0,39	0,2	0,2
<i>E. faecalis</i> , ATCC 19433	0,2	0,78	0,39	0,78
<i>S. aureus</i> , 87037	0,78	> 6. 25	1. 56	> 6. 25

ES 2 513 819 T3

	Hemihidrato	LVFX	GTFX	CPFX
<i>S. pneumoniae</i> , J24	0,1	0,78	0,2	0,39
CIM (mg/ml)				

5 Además, se midió la actividad anti-*Mycobacterium tuberculosis* del hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) de acuerdo con procedimientos convencionales designados por Sociedad Japonesa de Quimioterapia (Revista Japonesa de Quimioterapia, vol. 29, páginas 76 a 79, 1981). Los resultados obtenidos se muestran mediante la CIM (mg/mL). Las actividades contra bacterias sensibles se muestran en la Tabla 2, y la actividad contra bacterias resistentes a quinolonas se muestran en la Tabla 3. RFP representa rifampicina. El hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) exhibió una excelente actividad antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis*.

10 [Tabla 2]

Cepa/Compuesto	Compuesto de la Presente Invención	RFP
TB-s 2	0,06	0,03
TB-s 3	0,06	0,125
TB-s 4	0,06	0,06
TB-s 5	0,06	0,06
TB-s 6	0,06	0,125
TB-s 7	0,06	0,06
TB-s 8	0,03	0,015
TB-s 9	0,06	0,06
TB-s 10	0,03	0,06
TB-s 11	0,06	0,06
TB-s 12	0,125	0,125
TB-s 13	0,06	0,06
TB-s 14	0,06	0,03
TB-s 15	0,06	0,06
TB-s 16	0,06	0,06
TB-s 17	0,06	0,06
TB-s 18	0,06	0,03
TB-s 19	0,06	0,125
TB-s 20	0,06	0,25
TB-s 21	0,06	0,03
TB-s 22	0,03	0,015
Kurono	0,03	0,06
H37Rv	0,03	0,125
Ravenel	0,03	0,125

[Tabla 3]

Cepa/Compuesto	Compuesto de la Presente Invención	RFP
s 1	1	16
MDR 1	0,125	16
MDR 3	0,125	128

Cepa/Compuesto	Compuesto de la Presente Invención	RFP
MDR 4	0,25	64
MDR 5	0,5	32
MDR 7	0,125	> 128
MDR 9	0,125	128
MDR 12	0,125	128
1 (QR-3)	0,125	> 128
2 (QR-6)	0,5	> 128
3 (QR-1)	0,25	128
4 (QR-9)	0,25	> 128

[Ejemplo de Ensayo 2]

Eficacia terapéutica en modelo de infección local de pulmón murino

5 La eficacia terapéutica del hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) se examinó en el modelo de infección local de pulmón murino infectado por streptococcus pneumonia resistente a la penicilina (PRSP), mediante la administración por vía oral del hemihidrato al modelo.

10 La cepa de PRSP 033806 cultivadas anaeróticamente con caldo Todd-Hewitt se inoculó por goteo nasal en ratones macho CBA/JNCrlj (3 a 4 semanas de edad, de CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC., 4 ratones en un grupo) anestesiados con ketamina/xilazina. Al modelo de infección se le administró oralmente el hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) a las dosis que se muestran en la Tabla 2 (25, 50 y 100 mg/kg/día) a las 2 horas y 8 horas de la infección (una terapia diaria, 50, 100, y 200 mg/kg/día como dosis diaria). A un grupo de control no tratado, se le administró agua destilada para inyectables.

15 El recuento de bacterias en el pulmón se midió en el grupo de control inmediatamente antes de administrar el medicamento (2 horas después de la infección, pre-control), el grupo de control al día siguiente de la administración del medicamento (al día siguiente de la infección, post-control), y el grupo al que se administró medicamento, y se utilizó como indicador de la eficacia terapéutica.

[Ejemplo de ensayo 3]

Eficacia terapéutica en el modelo de cistitis simple en rata (E. coli)

25 Modelo Infectado: ratas (Crl: CD(SD) (IGS), hembra, 7 semanas de edad, de CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC, 4 ratas en un grupo) que no dispusieron de agua desde el día anterior se anestesiaron con ketamina/xilazina, y, a continuación la cepa de E. coli E77156 se inoculó por vía transuretral en la vejiga urinaria (1,2 x 10⁷ CFU/rata). Después de la inoculación, con el fin de prevenir la excreción de la solución de la cepa, la abertura uretral se bloqueó durante 2 horas. Y después de liberar el bloqueo, se proporcionó de nuevo agua.

30 Administración del Agente: el hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) se administró por vía oral una vez a una dosis de 5, 20, y 80 mg/kg al día siguiente de la infección.

35 Evaluación de la eficacia: El recuento de bacterias en la vejiga se midió en el grupo de control y el grupo al que se administró medicamento inmediatamente antes de administrar el medicamento, y al día siguiente de la administración del medicamento (dos días después de la infección). Los valores medidos se utilizaron como indicador de la eficacia terapéutica. Resultados: El hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) exhibió una disminución estadísticamente significativa en el recuento bacteriano en comparación con el recuento al inicio del tratamiento (FIG. 2). Es decir, junto con los Ejemplos de Ensayo anteriores, se ha demostrado que el hemihidrato del compuesto representado por la Fórmula (I) es un compuesto que presenta una excelente eficacia terapéutica.

[Ejemplo 1]

45 Hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico

Se añadió acetonitrilo (16 mL) a ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico (2,08 g); y se calentó a aproximadamente 50°C

para disolverlo. Esta solución se enfrió a temperatura ambiente y después se agitó durante un día para precipitar los cristales. Los cristales precipitados se filtraron y se secaron al aire para obtener 1,19 g (57%) de hemihidrato, que era el compuesto del título. Este cristal se midió por difracción de rayos X de polvo (FIG. 3), análisis térmico (TG/DTA) (FIG. 4), y análisis elemental y se confirmó como hemihidrato, es decir, el compuesto del título.

5

Análisis elemental para $C_{21}H_{23}N_3O_4F_2 \cdot 1/2 H_2O$
 Valor calculado: C, 58,87; H, 5,65; N, 9,81; F, 8,87.
 Valor real: C, 58,73; H, 5,65; N, 9,94; F, 8,87.

Las condiciones de medición de la difracción de rayos X de polvo fue la siguiente:

10

Dispositivo: X' Pert-MPD PW3050 de Philips
 Velocidad de escaneo: 0,015° 2θ/s
 Gama de escaneado: 5 a 40°

La condición de medición de análisis térmico (TG/DTA) era como sigue:

15

Análisis Térmico del dispositivo: SSC5200 TG/DTA220 de Seiko Instruments y Electronics Ltd.
 Tasa de incremento de temperatura: 10°C/min
 Atmósfera: gas nitrógeno 200 mL/min

[Ejemplo de evaluación 1]

20

Comportamiento de sorción y desorción de humedad

El comportamiento de sorción y desorción de humedad se examinó con un dispositivo de adsorción de vapor de agua automático de tipo de presión atmosférica para el hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la FIG. 5. El cambio de peso de este cristal fue de 1% o menos en forma de cambios de humedad, lo que indica que el cristal es estable.

25

[Ejemplo de evaluación 2]

30

Cambio en la sorción y desorción de humedad después de la deshidratación térmica

El cambio en la sorción y desorción de humedad después de la deshidratación térmica (60°C) se examinó para el hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la FIG. 6. El compuesto se rehidrató rápidamente después de haber sido deshidratado, y el comportamiento de sorción y desorción de humedad del compuesto permaneció aproximadamente igual que antes del tratamiento térmico.

35

[Ejemplo de evaluación 3]

40

Cambio en la forma cristalina después de la deshidratación térmica

El cambio en la forma cristalina mediante tratamiento térmico se examinó para el hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la FIG. 7. El compuesto tenía su estado cristalino incluso después de ser deshidratado, y sólo se observó una pequeña diferencia en su patrón de difracción, lo que sugiere que el compuesto se restaura a hemihidrato estable después de absorber agua y se rehidrata rápidamente.

45

[Ejemplo de evaluación 4]

50

Estabilidad de los cristales

El cambio de peso y la forma cristalina se examinaron para el hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1 almacenándolo bajo la condición de 0, 52 o 93% de humedad relativa, a 25°C durante 3 días. La forma cristalina se evaluó midiendo con difracción de rayos X de polvo y análisis térmico. Como resultado, el peso cambió ligeramente (Tabla 4), y la forma cristalina no cambió.

55

[Tabla 4]

Estabilidad Cristalina del Hemihidrato [Cambio de peso (%)]		
0% HR	52% HR	93% HR
0,00	0,43	0,61

[Ejemplo de evaluación 5]

Estabilidad química

- 5 Cada hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1 se almacenó durante 2 semanas bajo condiciones de calor húmedo (40°C, 75% HR), condiciones calor seco (50°C, 0% HR) y condiciones de fotoirradiación. Los resultados se muestran en la Tabla 5. El compuesto de acuerdo con la presente invención era estable y su contenido no disminuyó bajo condiciones de calor húmedo y condiciones de calor seco. Sin embargo, bajo condiciones de fotoirradiación, se observaron cambio de color y alguna disminución en la razón restante del compuesto.

[Tabla 5]

Estabilidad Química del Hemihidrato					
[Razón en Peso Restante (%)]					
40°C,	75% HR	50°C,	0% HR	Foto	(1x · hr)
1 semana	2 semanas	1 semana	2 semanas	6×10^5	$1,2 \times 10^6$
99,4	100	101	101	97,0	95,1

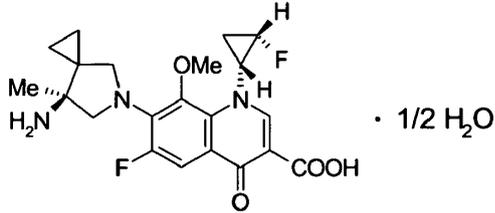
15

REIVINDICACIONES

1. Hemihidrato de ácido 7-[(7S)-7-amino-7-metil-5-azaespiro[2,4]heptan-5-il]-6-fluoro-1-[(1R,2S)-2-fluorociclopropil]-8-metoxi-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxílico.

5

2. Un compuesto representado por la siguiente fórmula:



3. Un medicamento que comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2.

10

4. El medicamento de acuerdo con la reivindicación 3, que es un medicamento para prevenir o tratar una enfermedad infecciosa.

5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, que es una composición farmacéutica para prevenir o tratar una enfermedad infecciosa.

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 para uso como medicamento.

20

8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 para uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad infecciosa.

25

Fig. 1

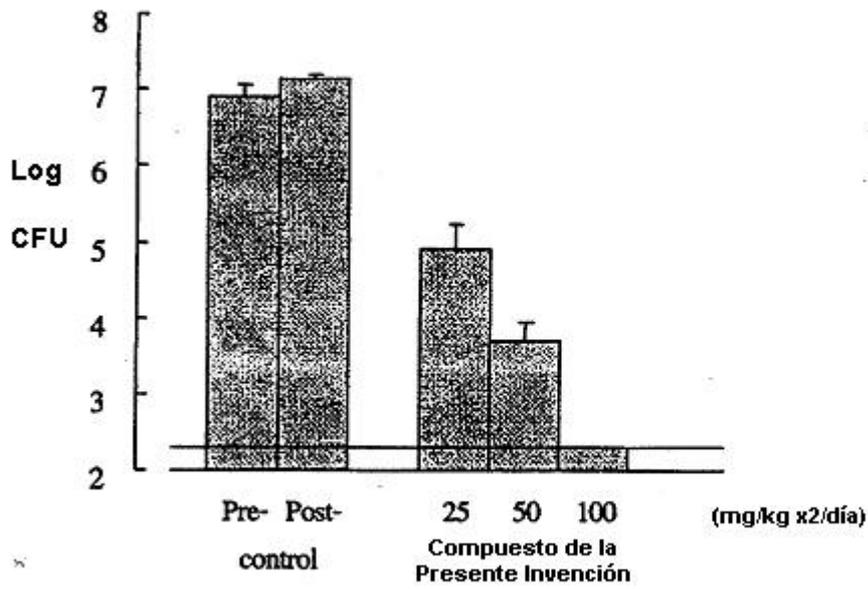
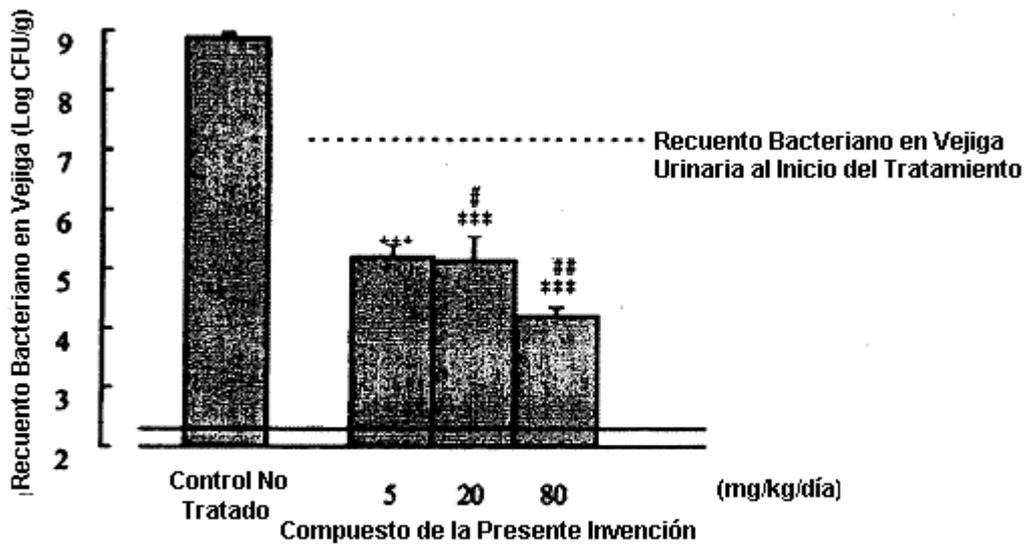


Fig. 2



* : P < 0,05, *** : P < 0,001 vs Control No Tratado

: P < 0,05; ## : P < 0,01 vs Recuento Bacteriano en Vejiga al Inicio del Tratamiento

Fig. 3

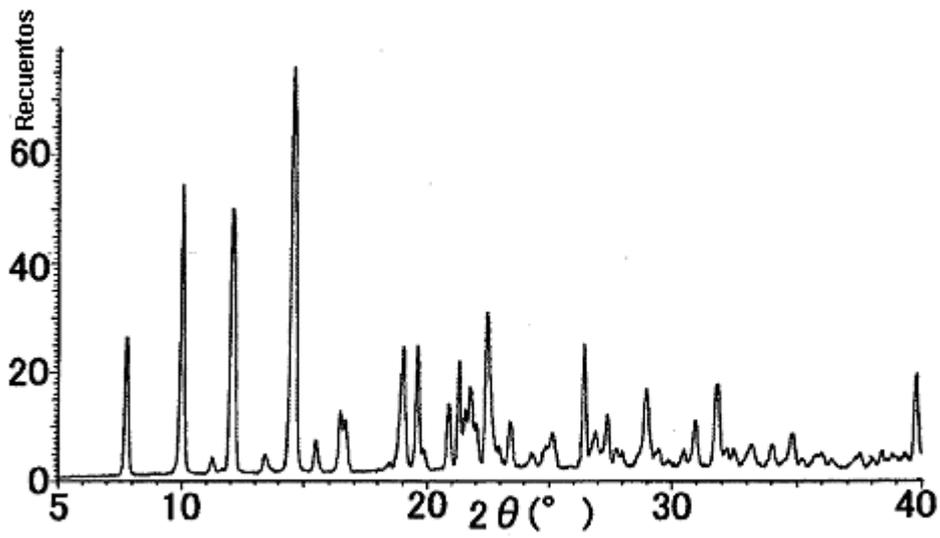


Fig. 4

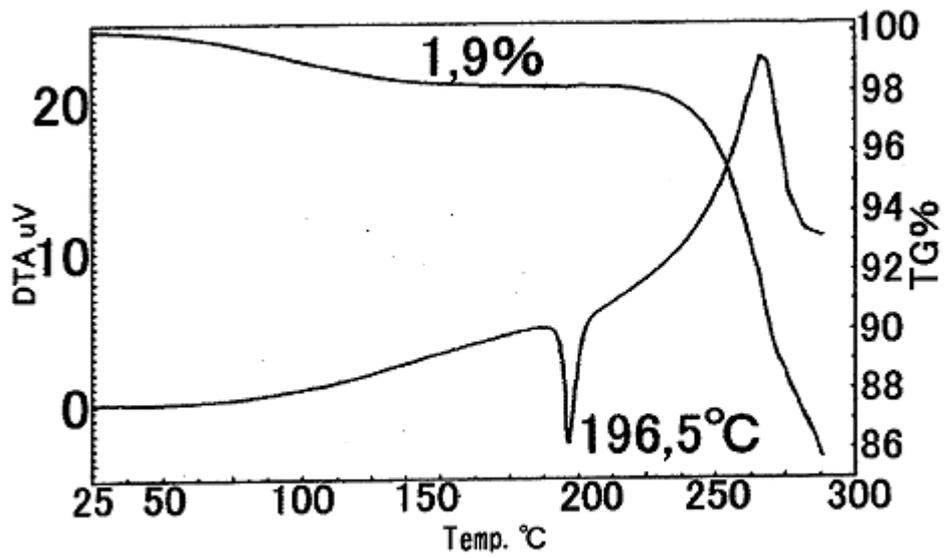


Fig. 5

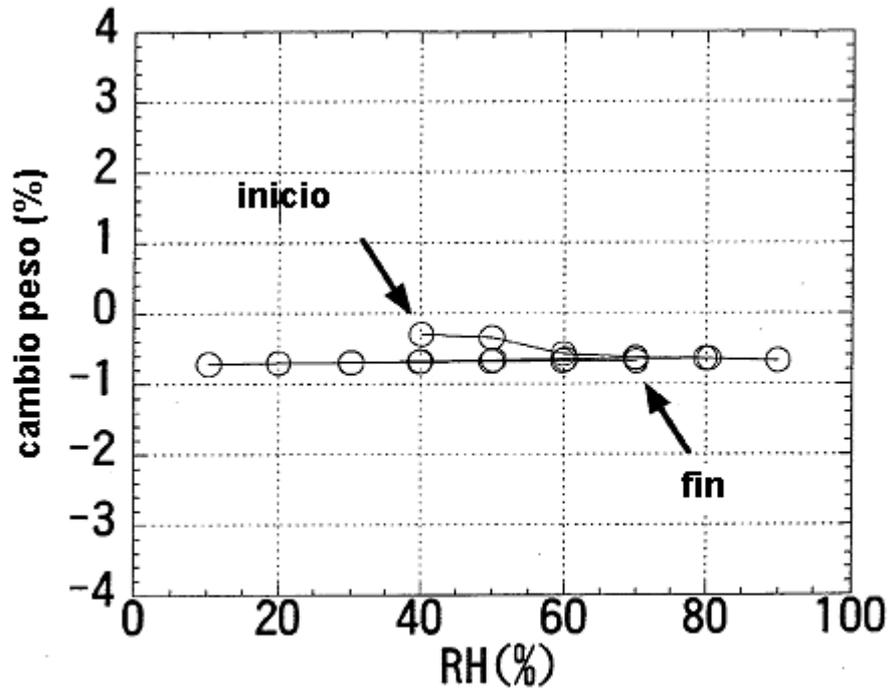


Fig. 6

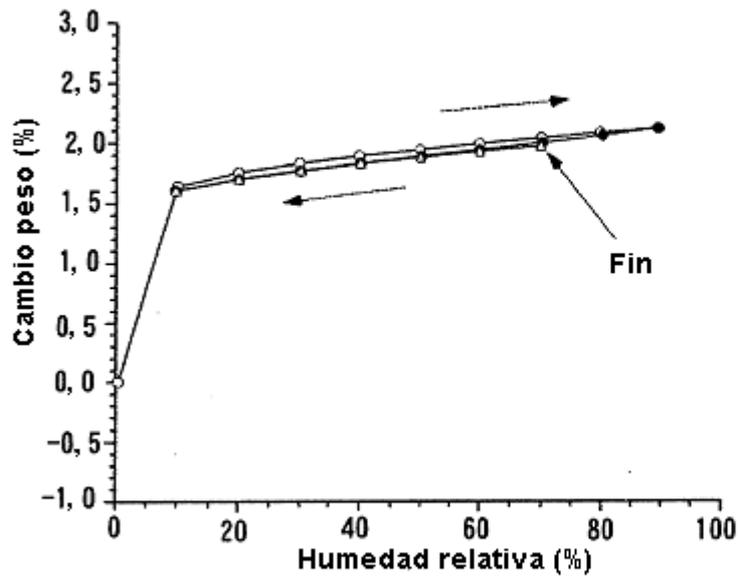


Fig. 7

