

CH 683427 A5



CONFÉDÉRATION SUISSE
OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑪ **CH 683427 A5**

⑤① Int. Cl.⁵: **C 07 D** 217/20
A 61 K 31/485

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ **FASCICULE DU BREVET** A5

⑳ Numéro de la demande: 857/92

㉔ Date de dépôt: 12.07.1991

㉓ Priorité(s): 13.07.1990 GB 9015473

㉔ Brevet délivré le: 15.03.1994

㉔ Fascicule du brevet
publié le: 15.03.1994

㉔ Titulaire(s):
The Wellcome Foundation Limited, London NW1
2BP (GB)

㉔ Inventeur(s):
Hill, Derek Anthony, Dartford/Kent (GB)
Turner, Geoffrey Lloyd, Dartford/Kent (GB)

㉔ Mandataire:
A. Kerr AG, Patentanwälte, Arlesheim

㉔ Demande internationale: PCT/GB 91/01150 (En)

㉔ Publication internationale: WO 92/00965 (En)
23.01.1992

㉔ **Composé d'isoquinoléine comme agents de blocage neuromusculaire.**

㉔ La présente invention concerne des sels de 1R-cis et
1'R-cis atracurium.
Ces sels sont utiles comme agents de blocage neuro-
musculaire.



CH 683427 A5

Description

La présente invention concerne un composé d'isoquinoléine utile comme agent de blocage neuromusculaire.

Les agents de blocage neuromusculaire sont largement utilisés en anesthésie chirurgicale pour la relaxation des muscles du squelette aux fins de faciliter le travail du chirurgien. Ces agents sont aussi beaucoup utilisés dans les unités de soins intensifs (USI) des hôpitaux pour amener la relaxation musculaire à long terme chez les patients qui ont été intubés pour assurer leur ventilation assistée.

Le bésylate d'atracurium [ou dibésylate de 2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium)] est un agent de blocage neuromusculaire non dépolarisant qui est devenu disponible pour la première fois à l'usage de la chirurgie humaine au Royaume-Uni en décembre 1982 et un an plus tard aux Etats-Unis d'Amérique. Le composé est décrit dans le brevet anglais n° 1 579 822 et le brevet USA n° 4 179 507. Ce médicament est actuellement beaucoup utilisé en chirurgie et en thérapeutique aux USI. Le médicament a été conçu spécialement pour subir la dégradation spontanée par une élimination de «Hofmann» aux valeurs physiologiques du pH et de la température et par une hydrolyse d'ester qui se fait indépendamment de la fonction hépatique et rénale. Pour l'usage en chirurgie humaine, le bésylate d'atracurium est utilisé sous la forme d'un mélange de dix isomères optiques et géométriques. Eur. J. Med. Chem.-Chem., Ther. 1984-19, n° 5, pages 441 à 450, concerne les isomères géométriques et optiques du bésylate d'atracurium.

Les agents de blocage neuromusculaire tels que le bésylate d'atracurium agissent en bloquant le récepteur de l'acétylcholine à la jonction neuromusculaire. Toutefois, ils peuvent aussi bloquer la transmission cholinergique dans le système nerveux autonome et induire des effets secondaires cardio-vasculaires non désirés. Par exemple, le blocage parasympathique provoque la tachycardie et l'hypertension, tandis que le blocage des ganglions sympathiques mène à la bradycardie et à l'hypotension. Les agents de blocage neuromusculaire ont aussi tendance à provoquer un dégagement d'histamine qui peut produire des réactions anaphylactiques mortellement dangereuses chez certains patients. Le radical antigénique des médicaments de relaxation des muscles du squelette est la structure ammonium quaternaire ou tertiaire qui confère aussi à ces agents les propriétés de blocage neuromusculaire. Sous ce rapport, l'atracurium est un libérateur faible de l'histamine et, comme pour d'autres agents de blocage neuromusculaire, des réactions anaphylactoïdes attribuées au médicament ont à l'occasion été décrites.

La Demanderesse a découvert à présent que les sels d'atracurium dans lesquels la partie atracurium a une configuration isomère géométrique et optique particulière présentent une combinaison spécialement avantageuse de propriétés pharmacologiques qui rendent ces sels exceptionnellement avantageux comme agents de blocage neuromusculaire.

La configuration isomère géométrique et optique particulière pour la partie atracurium dont il est question ci-dessus est la configuration 1R-cis,1'R-cis. Les sels d'atracurium ayant cette configuration peuvent être appelés sels de 1R-cis,1'R-cis-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium). Ces sels sont appelés ci-après sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium.

Suivant une particularité, la présente invention a pour objet un sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium sensiblement exempt d'autres isomères géométriques et optiques.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium conformes à l'invention sont sensiblement exempts d'autres isomères géométriques et optiques dans la mesure où ils se trouvent, en général, en mélange avec moins de 5% p/p, de préférence moins de 2% p/p, de ces autres isomères, sur la base du poids total du mélange en question. En particulier, les sels 1R-cis,1'R-cis ci-dessus conformes à l'invention contiennent avec avantage (a) moins de 1% p/p des isomères cis,trans correspondants et/ou moins de 0,5% p/p des isomères trans,trans et/ou (b) généralement moins de 5% p/p, de préférence moins de 2% p/p, des isomères S correspondants.

Pour l'administration à l'être humain, par exemple en chirurgie ou thérapeutique médicale, par exemple en anesthésie, les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium conformes à l'invention doivent comprendre un anion physiologiquement acceptable, les anions préférés étant les anions halogénure, par exemple chlorure, bromure ou iodure, sulfate, phosphate, hydrogénophosphate, acétate, propionate, succinate, maléate et organosulfonate, par exemple méthanesulfonate (mésylate), benzènesulfonate (bésylate), p-toluènesulfonate (tosylate) et naphthalènesulfonate, les anions mésylate et bésylate étant spécialement préférés. Ces sels contenant un anion physiologiquement acceptable sont appelés ci-après sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptables.

Les sels d'atracurium comprenant un anion non physiologiquement acceptable peuvent être utilisés dans la synthèse d'un sel physiologiquement acceptable correspondant.

En ce qui concerne la combinaison spécialement avantageuse de propriétés pharmacologiques dont il est question ci-dessus, la Demanderesse a découvert par des expériences sur les animaux que les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium ont un pouvoir de blocage neuromusculaire sensiblement plus grand que le bésylate d'atracurium sous la forme d'un mélange d'isomères géométriques et optiques, tout en ayant une durée d'action semblable.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium ont aussi des effets défavorables potentiels moins marqués sur

le système nerveux autonome, notamment de blocage sympathique et de blocage parasympathique, avec moins de probabilité d'exercer des effets cardio-vasculaires histaminoïdes aux doses thérapeutiques, offrant ainsi une plus grande sûreté pour le patient, par comparaison avec le bésylate d'atracurium sous la forme d'un mélange d'isomères géométriques et optiques.

Un autre avantage des sels 1R-cis,1'R-cis atracurium conformes à l'invention est qu'ils exercent un blocage neuromusculaire plus efficace en formant des quantités moindres de produits de dégradation que le mélange précité d'isomères du bésylate d'atracurium. Cet avantage est particulièrement souhaitable pour les interventions chirurgicales relativement longues et l'administration en USI mettant en jeu des doses élevées et/ou de longues durées de traitement.

La présente invention a aussi pour objet:

a) les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptables conformes à l'invention à utiliser en chirurgie ou thérapeutique médicale, par exemple en anesthésie, en particulier pour induire le blocage neuromusculaire chez un animal, par exemple un mammifère tel que l'être humain,

b) l'utilisation des sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptables conformes à l'invention dans la préparation d'une composition pharmaceutique pour induire le blocage neuromusculaire, et

c) un procédé pour induire le blocage neuromusculaire chez un animal, par exemple un mammifère tel que l'être humain, qui comprend l'administration à cet animal, en quantité efficace pour le blocage neuromusculaire, d'un sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable conforme à l'invention.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptables conformes à l'invention sont généralement utilisés en chirurgie ou thérapeutique médicale, par exemple en anesthésie, par administration des sels au sujet en question, par exemple l'être humain, par une voie appropriée et en une dose propre à exercer l'effet souhaité de blocage neuromusculaire. Les sels sont généralement administrés par injection par voie intraveineuse ou intramusculaire ou, si la chose est requise, par perfusion intraveineuse ininterrompue. La dose précise à laquelle les sels sont administrés varie avec le degré de blocage neuromusculaire requis, l'âge et l'état du patient. Toutefois, lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse, les sels sont généralement pris en une dose de 0,1 à 0,6 mg par kg, de préférence de 0,2 à 0,4 mg par kg. Dans le cas de l'administration par perfusion, les sels sont généralement pris en une dose de 0,1 à 0,6 mg par kg et par heure, de préférence de 0,2 à 0,4 mg par kg et par heure.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium conformes à l'invention sont généralement utilisés en chirurgie ou thérapeutique médicale sous la forme d'une composition pharmaceutique comprenant un tel sel conjointement avec un excipient pharmaceutiquement acceptable. Ces compositions sont de préférence conçues pour l'administration par injection ou perfusion, par exemple sous forme d'une solution, d'une émulsion ou d'une suspension du sel dans un liquide aqueux ou non aqueux pharmaceutiquement acceptable, par exemple de l'eau stérile, qui peut contenir aussi, si la chose est souhaitée, un ou plusieurs autres excipients appropriés tels que des bactériostatiques, des antioxydants, des tampons, des épaississants ou des agents de mise en suspension. Ces compositions liquides contiennent généralement le sel en une quantité de 5 à 15 et de préférence de 5 à 10 mg par ml. En variante, les sels peuvent être présentés à l'état de solides lyophilisés pour reconstitution avec de l'eau pour injections ou avec des solutions de dextrose ou physiologiques salées. Les compositions conformes à l'invention sont généralement présentées en formes dosées unitaires telles que des ampoules ou dispositifs d'injection jetables, ou en formes multidoses telles qu'un flacon dont la dose appropriée peut être prélevée; toutes ces compositions doivent être stériles. Ces formes dosées unitaires contiennent généralement 10 à 250 mg, de préférence 25 à 50 mg, d'un sel conforme à l'invention en solution ou à l'état de solide lyophilisé.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis atracurium conformes à l'invention peuvent être préparés en exposant les sels de 1R,1'R atracurium correspondants aux effets de conditions ou réactants servant à isoler l'isomère 1R-cis,1'R-cis des isomères géométriques correspondants contenus dans ce sel de 1R,1'R atracurium.

L'isolement du sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium souhaité suivant le procédé ci-dessus est effectué avec avantage par chromatographie, en particulier par chromatographie liquide à haute performance (hplc), mais la chromatographie à contre-courant liquide, la chromatographie sur colonne ou la chromatographie par échange d'ions peuvent être appliquées aussi. Un isolement particulièrement efficace du sel souhaité a été obtenu par hplc avec une colonne garnie de silice ou d'alumine et une phase mobile comprenant un mélange approprié de solvants, par exemple un mélange d'un hydrocarbure chloré tel que le chlorure de méthylène, ou d'acétonitrile, d'un alcool, par exemple un alcool aliphatique à chaîne courte tel que le méthanol, l'éthanol ou l'isopropanol, et d'un acide fort tel que l'acide benzènesulfonique, l'acide méthanesulfonique, l'acide p-toluènesulfonique ou l'acide phosphorique. Un mélange chlorure de méthylène:méthanol:acide méthanesulfonique, de préférence dans un rapport 80:20:0,5, s'est révélé spécialement avantageux et fait éluer de la colonne le méthanesulfonate (mésylate). De même, pour l'élution du benzènesulfonate (bésylate), un mélange chlorure de méthylène:méthanol:acide benzènesulfonique (4000:500:0,25) est préféré. La solution du sel élué peut être ensuite lavée pour en éliminer les solvants tels que le méthanol et l'acide en excès éventuel et le sel peut être isolé par évapora-

tion de l'hydrocarbure chloré. Le sel désiré peut être obtenu à l'état de solide par lyophilisation d'une solution aqueuse du sel ou par dissolution dans un solvant tel que l'éther, puis précipitation par addition d'un solvant non polaire tel que l'éther de pétrole ou le cyclohexane.

Le sel de 1R,1'R atracurium utilisé comme composé de départ dans le procédé ci-dessus peut être préparé à partir de la (R)-1,2,3,4-tétrahydropapavérine de la façon classique, par exemple par le procédé décrit dans Eur. J. Med. Chem.-Chem. Ther., 1984-19, n° 5, pages 441 à 450.

Les exemples suivants illustrent la présente invention.

EXEMPLE 1.

a) Diacrylate de 1,5-Pentaméthylène.

On chauffe du 1,5-pentanediol (15,6 g) dans du toluène au reflux (500 ml) avec de l'acide 3-bromopropionique (50,5 g) et une trace d'acide p-toluènesulfonique pendant 4 heures. Ensuite, on lave la solution toluénique refroidie avec une solution aqueuse d'acétate de sodium et on la fait réagir avec de la triéthylamine (50 ml) au reflux. On lave le mélange de réaction refroidi soigneusement à l'eau pour éliminer la triéthylamine et le bromhydrate de triéthylamine, puis on en chasse le toluène sous pression réduite.

On obtient le produit, à savoir le diacrylate de 1,5-pentaméthylène (24,0 g, rendement de 75%), sous la forme d'un liquide pâle par distillation sous vide poussé (P.Eb. 90 à 95°C sous 0,1 mm Hg).

b) (R)-Tétrahydropapavérine.

On dissout du chlorhydrate de (+)-tétrahydropapavérine (105 g) dans de l'eau et on alcalinise la solution avec de l'ammoniaque aqueuse diluée. On dissout 1a (+)-tétrahydropapavérine base précipitée dans du toluène, puis on en chasse le solvant par évaporation pour obtenir la base sous la forme d'une huile jaune pâle. On dissout l'huile dans du méthanol (1575 ml) et on l'additionne de N-acétyl-L-leucine (47,5 g). On ajoute de l'éther diéthylique (274 ml) à la solution à partir de laquelle le N-acétyl-L-leucinate de (S)-tétrahydropapavérine (35,5 g) cristallise graduellement. Après avoir séparé les cristaux par filtration, on évapore les liqueurs mères à petit volume pour obtenir un solide (100 g) qu'on recristallise ensuite dans l'acétone (50 volumes) à l'ébullition. Par refroidissement, il se forme des cristaux [74 g, 83% de diastéréoisomère (R) et 17% de diastéréoisomère (S)] qu'on recueille par filtration. On recristallise le solide une fois encore dans l'acétone (50 volumes) à l'ébullition pour obtenir 58,7 g de N-acétyl-L-leucinate de (R)-tétrahydropapavérine [97% d'isomère (R) et 3% d'isomère (S)].

c) Dioxalate de (1R, 1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-1-vératrylisoquinoléine).

On dissout du N-acétyl-leucinate de (R)-1,2,3,4-tétrahydropapavérine (58,7 g) dans de l'eau et on y ajoute de l'ammoniaque aqueuse. On extrait la base précipitée dans du toluène (600 ml) et après évaporation du solvant, on l'isole sous la forme d'une huile (39,0 g). On chauffe la (R)-1,2,3,4-tétrahydropapavérine base avec du diacrylate de 1,5-pentaméthylène (10,7 g) et de l'acide acétique glacial (3,0 ml) pendant 4 heures à 70°C. On dissout le mélange de réaction dans du toluène (400 ml) et on agite avec du gel de silice 60 (Merck, de qualité pour colonne chromatographique, n° 70 à 230), on filtre et on évapore pour obtenir une huile jaune. On dissout le produit dans de l'acétone (600 ml), on y ajoute de l'acide oxalique (9,3 g) pour faire précipiter le dioxalate de (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-1-vératrylisoquinoléine) sous la forme d'un solide blanc (54,2 g, rendement de 99%), P.F. 125°C, hplc -97,8%.

d) Benzènesulfonate de (1R, 1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium).

[Bésylate de (1R,1'R) atracurium].

On dissout du dioxalate de (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-1-vératrylisoquinoléine) (54,0 g) dans de l'eau (1,6 litre) et on y ajoute du carbonate de sodium pour amener le pH à 7,0. On extrait la base précipitée dans du toluène (600 ml), puis on évapore le solvant pour obtenir une huile jaune très visqueuse (42,7 g). On fait réagir l'huile avec du benzènesulfonate de méthyle (75 ml) à la température ambiante jusqu'au lendemain. On isole le produit, à savoir le benzènesulfonate de (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium) par partage entre de l'eau et du toluène. On lave la phase aqueuse encore avec deux aliquotes de toluène, puis on la soumet à la lyophilisation. On obtient le produit (49,7 g, rendement de 80%) sous la forme d'un solide jaune pâle.

Le produit est un mélange d'isomères du bésylate de (1R,1'R) atracurium, à savoir 1R-cis,1'R-cis, 1R-cis,1'R-trans et 1R-trans,1'R-trans dans un rapport de 58:34:6 respectivement.

e) Methanesulfonate de 1R-cis,1'R-cis-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium).

[Mésylate de (1R-cis,1'R-cis atracurium)].

On dissout un mélange d'isomères du bésylate de (1R,1'R) atracurium (10 g) obtenu au stade d) dans du dichlorométhane (50 ml) et on le pompe dans une colonne de chromatographie de 500 mm × 50 mm en compression axiale garnie de 520 g de silice irrégulière de 20 à 45 µm, puis on élue la colonne avec un mélange de dichlorométhane, de méthanol et d'acide méthanesulfonique (80:20:0,5). On recueille les fractions de l'éluat de la colonne et on combine les fractions contenant l'isomère 1R-cis, 1'R-cis recherché, puis on les lave avec de la saumure à 10%. On évapore la solution dans le dichlorométhane jusqu'à siccité, on dissout l'huile incolore résiduelle dans de l'eau et on ajuste le pH de la solution à 4,0 avec de l'acide méthanesulfonique. On lyophilise la solution aqueuse pour obtenir le composé annoncé au titre (5 g) sous la forme d'un solide blanc qu'on identifie comme étant sensiblement exempt d'autres isomères géométriques et optiques du composé, à savoir comme se trouvant en mélange avec moins de 5% p/p de ces isomères, en particulier moins de 3% p/p de l'isomère 1R-cis-1'S-trans correspondant et moins de 0,3% p/p de l'isomère 1R-cis,1'R-trans correspondant.

EXEMPLE 2.

Benzènesulfonate de 1R-cis,1'R-cis-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatridécylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthylvératrylisoquinoléinium.

[Bésylate de (1R-cis, 1'R-cis-atracurium)].

On répète les stades a), b), c) et d) de l'exemple 1. On isole le produit obtenu au stade d) comme décrit ou on le chromatographie comme décrit ci-après.

On dissout un mélange d'isomères du bésylate de (1R,1'R) atracurium [1,5 g des isomères isolés au stade d) ou 3,5 g du mélange de réaction du stade d)] dans du dichlorométhane (10 ml) et on le pompe dans une colonne de chromatographie de 300 mm × 25 mm en compression axiale garnie de 80 g de silice sphérique de 10 µm et on élue la colonne avec un mélange de dichlorométhane, de méthanol et d'acide benzènesulfonique 4000:500:0,25. On collecte les fractions éluées de la colonne, on combine les fractions contenant l'isomère 1R-cis,1'R-cis recherché et on les lave avec de la saumure à 10% ou de l'eau. On évapore la solution dans le dichlorométhane jusqu'à siccité, on dissout le résidu huileux ou semi-solide incolore dans de l'eau et on ajuste le pH de la solution à environ 4,0 avec une solution aqueuse d'acide benzènesulfonique. On lyophilise la solution aqueuse pour obtenir le composé annoncé au titre (0,5 g) sous la forme d'un solide blanc qu'on identifie comme étant sensiblement exempt d'autres isomères géométriques et optiques du composé, à savoir comme se trouvant en mélange avec moins de 5% p/p de ces isomères, en particulier moins de 3% p/p de l'isomère 1R-cis,1'S-trans correspondant et moins de 0,3% p/p de l'isomère 1R-cis,1'R-trans correspondant. Le produit donne les résultats suivants à l'analyse ¹H RMN (CDCl₃) : δ 1,52 (m, 7CH₂-tridéca), 1,63 (m, 6CH₂-tridéca, 8CH₂-tridéca), 2,84 (m, 1/2-4CH₂, 1/2-CH₂-vératryle), 3,15 (m, 1/2-4CH₂), 3,22 (s, NCH₃), 3,26 (m, 2CH₂-tridéca, 12CH₂-tridéca), 3,34 (s, OCH₃), 3,47 (m, 1/2-3CH₂, 1/2-CH₂-vératryle), 3,58 (s, OCH₃), 3,73 (2s, OCH₃, OCH₃), 3,84 (m, 1/2-3CH₂), 3,95 – 4,24 (m, 5CH₂-tridéca, 9CH₂-tridéca, 1CH₂-tridéca, 13CH₂-tridéca), 4,86 (dd, J=3,8 Hz, 1H), 5,87 (s, 8H), 6,36 (dd, J=8,2 Hz, 6H-vératryle), 6,42 (d, J=2 Hz, 2H-vératryle), 6,48 (s, 5H), 6,59 (d, J=8 Hz, 5H-vératryle), 7,24 (m, méta- et parabésylate), 7,78 (m, orthobésylate).

Les exemples suivants illustrent des compositions pharmaceutiques conformes à l'invention dans lesquelles le «constituant actif» est le bésylate de 1R-cis,1'R-cis atracurium conforme à l'invention.

EXEMPLE 3.

Solution à injecter en dose unitaire.

Constituant actif		50 mg
Acide benzènesulfonique	q.s. pour pH	3 à 4
Eau pour injection	pour faire	5 ml

On dissout le constituant actif dans l'eau pour injections et on ajuste le pH de la solution résultante si nécessaire avec l'acide. On stérilise la solution par filtration et on l'introduit dans des ampoules stériles de 5 ml.

EXEMPLE 4.Solution à injecter multidosée.

5	Constituant actif	100 mg
	Acide benzènesulfonique	q.s. pour pH 3 à 4
	Alcool benzylique	90 mg
10	Eau pour injections	pour faire 10 ml

On dissout le constituant actif et l'alcool benzylique dans l'eau pour injections et on ajuste le pH de la solution résultante si nécessaire avec l'acide. On stérilise la solution par filtration et on l'introduit dans des ampoules stériles de 10 ml.

EXEMPLE 5.Solution à injecter lyophilisée.

20	Constituant actif	50 mg
	Acide benzènesulfonique	q.s. pour pH 3 à 4
25	Mannitol	62,5 mg
	Eau pour injections	pour faire 2,5 ml

On dissout le constituant actif et le mannitol dans l'eau pour injections et on ajuste le pH de la solution résultante si nécessaire avec l'acide. On stérilise la solution par filtration et on l'introduit dans des fioles stériles, puis on la lyophilise.

Evaluation pharmacologique.

On a évalué le mésylate de 1R-cis,1'R-cis atracurium (dit ci-après composé A) comme décrit ci-dessous par comparaison avec le mélange classique d'isomères géométriques et optiques (dit ci-après mésylate d'atracurium) pour déterminer l'activité de blocage neuromusculaire et les effets sur le blocage sympathique et parasympathique.

a) Procédés et matériels.

On anesthésie des chats mâles métis (Southeastern Laboratories Animal Farm), d'un poids de 2,2 à 4,25 kg à l'aide d'un mélange de pentobarbital sodique à 7 mg par kg i.p. et d'alpha-chloralose à 80 mg par kg i.p. On entretient les degrés adéquats d'anesthésie avec des doses supplémentaires d'alpha-chloralose administrées par voie intraveineuse suivant les besoins. On canule la trachée et on ventile les animaux avec 20 ml par kg d'air ambiant à l'aide d'une pompe respiratoire Harvard Apparatus réglée à 20 coups par minute. On mesure la tension artérielle dans l'artère fémorale droite avec une canule raccordée à un transducteur Statham P23. On détermine le rythme cardiaque d'après l'électrocardiogramme avec un tachygraphe Grass. On dégage le nerf sympathique cervical droit, on le tranche à environ 5 cm à proximité du ganglion cervical supérieur et on le pose sur une électrode en platine bipolaire blindée. On dégage le nerf vague droit, on l'écrase à environ 2 cm à l'aval du ganglion nodal et on le pose sur une électrode en platine bipolaire blindée. On stimule le nerf sympathique cervical et le nerf vague pendant 10 secondes toutes les 5 minutes avec un stimulateur Grass S88 en prenant les paramètres suivants: 20 Hz, durée de 0,5 ms et tension supramaximale (10 à 15 volts). On enregistre les contractions isométriques de la membrane nictitante pendant une tension de repos de 5 g avec un transducteur à déplacement de force Grass FT.03 et un appareil polygraphique Grass. La tension de repos exercée sur la membrane nictitante est de 5 g.

On fixe rigidement le membre arrière gauche et on dégage le tendon tibial qu'on attache à un transducteur à déplacement de force Grass FT.03. Après avoir tranché le tronc du nerf sciatique, on pose le nerf péronier sur une électrode en platine bipolaire blindée. On applique des stimuli d'une durée de 0,2 ms avec une tension supramaximale au nerf à l'allure de 0,15 Hz avec un stimulateur Grass S88. On enregistre la contraction du tendon tibial antérieur pendant une tension de repos de 50 g.

On dissout les composés à essayer de la solution physiologique salée tamponnée à un pH de 3,0 et on les conserve sur de la glace pour les administrer au moyen d'une canule dans la veine fémorale droite. On surveille la température à l'oesophage avec une sonde à thermistance Yellow Springs et on

maintient la température centrale entre 37 et 38°C avec de la chaleur rayonnante. Tous les enregistrements sont exécutés sur un appareil polygraphique Grass modèle 7. Au terme des expériences, on euthanasie les chats par administration intraveineuse de KCl saturé ou de pentobarbital sodique.

b) Résultats.

On calcule d'après les courbes dose-réponse les grandeurs DE_{95} pour l'efficacité de blocage neuromusculaire.

On calcule de façon semblable les grandeurs DE_{50} et DE_{25} pour l'effet inhibiteur des composés sur la stimulation parasympathique (vague) et sympathique, respectivement.

Les résultats sont résumés au tableau suivant.

TABLEAU

Composé	DE_{95} calculée* (mg/kg)	Rapport inhibition du nerf vague à 50% contre DE_{95}	Rapport inhibition du nerf sympathique à 25% contre DE_{95}
Bésylate d'atracurium	$0,092 \pm 0,010$	17	34
Composé A	$0,062 \pm 0,008$	27	60

* DE_{95} calculée en mg par kg en base libre, sur la base du poids du cation atracurium.

Revendications

1. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium sensiblement exempt de ses autres isomères géométriques et optiques.

2. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium suivant la revendication 1, en mélange avec moins de 5% p/p de ses autres isomères géométriques et optiques.

3. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium suivant la revendication 1, en mélange avec moins de 2% p/p de ses autres isomères géométriques et optiques.

4. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable suivant l'une quelconque des revendications précédentes.

5. Mésylate ou bésylate de 1R-cis,1'R-cis atracurium suivant la revendication 4.

6. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable suivant la revendication 4, comme médicament destiné à la chirurgie ou à la thérapie.

7. Sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable suivant la revendication 6, comme agent de blocage neuromusculaire chez un animal.

8. Utilisation d'un sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable suivant la revendication 4 ou 5, pour la préparation d'un médicament de blocage neuromusculaire.

9. Composition pharmaceutique comprenant un sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium physiologiquement acceptable suivant la revendication 4 ou 5, conjointement avec un excipient pharmaceutiquement acceptable.

10. Composition pharmaceutique suivant la revendication 9, adaptée à l'administration par injection ou perfusion.

11. Procédé de préparation d'un sel de 1R-cis,1'R-cis atracurium suivant la revendication 1, qui comprend l'exposition d'un sel de 1R,1'R atracurium correspondant à l'effet de conditions ou réactants servant à opérer l'isolement de l'isomère 1R-cis,1'R-cis des isomères géométriques correspondants contenus dans ce sel de 1R,1'R atracurium.