



NUMERO DE PUBLICATION : 1003407A3

NUMERO DE DEPOT : 9100665

MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

Classif. Internat.: C07D A61K

Date de délivrance : 17 Mars 1992

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 12 Juillet 1991 à 15h20
à l' Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED
Unicorn House Euston Road 160, LONDON NW1 2BP(ROYAUME-UNI)

représenté(e)(s) par : ADYNS Gilbert, OFFICE KIRKPATRICK, Square de Meeus,
4 - B 1040 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : AGENTS DE BLOCAGE NEUROMUSCULAIRE.

Priorité(s) 13.07.90 GB GBA 9015473

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 17 Mars 1992
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L.
Directeur

Agents de blocage neuromusculaire.

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

Les agents de blocage neuromusculaire sont d'usage courant en anesthésie chirurgicale pour la relaxation des muscles du squelette afin de faciliter le travail du chirurgien. Ces agents sont abondamment utilisés aussi dans les unités de soins intensifs (USI) des hôpitaux pour assurer la relaxation musculaire à long terme des patients maintenus par intubation sous 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 les besoins de la chirurgie humaine pour la première fois au Royaume-Uni en décembre 1982 et un an plus tard aux USA. Ce composé est décrit dans le brevet anglais n° 1 579 822 et dans le brevet USA n° 4 179 507. Ce médicament est actuellement d'usage courant en chirurgie et en thérapeutique dans les unités de soins intensifs. Le principe actif a été conçu spécialement pour subir la dégradation spontanée par élimination d'"Hofmann" au pH et à la température physiologiques et par hydrolyse de la fonction ester qui a lieu indépendamment des fonctions hépatiques et rénales. Pour l'application en chirurgie humaine, le bésylate d'atracurium est administré sous la forme d'un mélange de dix isomères optiques et géométriques. Eur. J. Med. Chem.-Chim., Ther. 1984-19, n° 5, pages 441-450, 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 également bloquer la transmission cholinergique

dans le système nerveux autonome et exercer des effets secondaires cardio-vasculaires non souhaités. Par exemple, le blocage parasympathique provoque la tachycardie et l'hypertension, tandis que le blocage des ganglions sympathiques induit la bradycardie et l'hypotension. Les agents de blocage neuromusculaire ont également une propension à libérer l'histamine qui peut provoquer des réactions anaphylactiques mortellement dangereuses chez certains patients. Le radical antigénique des agents de relaxation des muscles du squelette est la structure ammonium quaternaire ou tertiaire qui confère aussi les propriétés de blocage neuromusculaire à ces agents. Sous ce rapport, l'atracurium est un agent de libération peu puissant de l'histamine et comme pour d'autres agents de blocage neuromusculaire, des réactions anaphylactiques attribuées au principe actif ont, à l'occasion, été mentionnées.

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 précieux 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-dioxatri-décylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-2-méthyl-1-vératrylisoquinoléinium). Ces sels sont dits 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 de ses 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 sont, 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 de 1R-cis,1'R-cis-atracurium ci-dessus conformes à l'invention contiennent avantageusement (a) moins de 1% p/p des isomères cis,trans correspondants et/ou moins de 0,5% p/p des isomères trans,trans correspondants et/ou (b) en général, 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 thérapeutique chirurgicale ou 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 notamment 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 naphthalène-sulfonate, les anions mésylate et bésylate étant spécialement préférés. Ces sels contenant un anion physiologiquement acceptable sont dits ci-après sels de 1R-cis,1'R-cis-atracurium physiologiquement acceptables.

Les sels dont l'anion n'est pas physiologiquement acceptable peuvent être utilisés pour 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 des animaux que les sels de 1R-cis,1'R-cis-atracurium ont une activité de blocage neuromusculaire sensiblement plus grande que celle du bésylate d'atracurium sous la forme d'un mélange des isomères géométriques et

optiques, tout en ayant une durée d'action semblable.

Les sels de 1R-cis,1'R-cis-atracurium ont aussi à un degré plus faible des effets défavorables potentiels sur le système nerveux autonome, notamment de blocage
5 sympathique et de blocage parasympathique, avec une moindre probabilité d'exercer aux doses thérapeutiques des effets cardio-vasculaires analogues à ceux de l'histamine, offrant ainsi une plus grande sécurité pour le patient, par comparaison avec le bésylate d'atracurium sous la forme d'un
10 mélange des isomères géométriques et optiques.

Un avantage résultant des sels de 1R-cis,1'R-cis-atracurium conformes à l'invention est qu'ils exercent un blocage neuromusculaire plus efficace en formant des produits de dégradation en concentration plus faible que le
15 mélange précité et isomères de bésylate d'atracurium. Cet avantage est particulièrement souhaitable pour les interventions chirurgicales de longue durée et les usages en unités de soins intensifs nécessitant de fortes doses et/ou de longues durées de traitement.

20 La présente invention a aussi pour objet :

a) les sels de 1R-cis,1'R-cis-atracurium physiologiquement acceptables conformes à l'invention à l'usage de la thérapeutique chirurgicale ou médicale, par exemple en anesthésie, spécialement pour induire le blocage
25 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 pour la fabrication d'une composition
30 pharmaceutique propre à induire le blocage neuromusculaire;

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
35 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 thérapeutique chirurgicale ou 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 administrés en règle générale par injection par voie intraveineuse ou intramusculaire ou bien, si nécessaire, par perfusion intraveineuse continue. La dose précise à laquelle les sels sont administrés varie avec le degré de blocage neuromusculaire souhaité, l'âge et l'état du sujet. Néanmoins, en administration 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 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 thérapeutique chirurgicale ou médicale sous la forme d'une composition pharmaceutique comprenant un tel sel conjointement avec un excipient pharmaceutiquement acceptable. Ces compositions sont de préférence adaptées à l'administration par injection ou perfusion, par exemple sous la forme d'une solution, émulsion ou suspension du sel dans un liquide aqueux ou non aqueux pharmaceutiquement acceptable, par exemple de l'eau stérile, qui peut contenir de surcroît, si la chose est souhaitée, un ou plusieurs autres excipients convenables, comme des agents 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 mg par ml, de préférence de 5 à 10 mg par ml. En variante, les sels peuvent être présentés sous la forme de solides lyophilisés à reconstituer avec de l'eau pour injection ou avec des

solutions physiologiques de dextrose ou de sel. Les compositions conformes à l'invention sont généralement présentées en formes dosées unitaires telles que des ampoules ou dispositifs pour injection jetables ou bien en
5 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
10 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-cis,1'R-cis-atracurium correspondants aux conditions ou réactants servant à opérer l'isolement de l'isomère
15 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 exécuté avantageusement par chromatographie, en particulier par
20 chromatographie liquide à haute performance (hplc), bien que la chromatographie liquide à contre-courant, la chromatographie sur colonne ou la chromatographie par échange d'ions puisse être appliquée aussi. Un isolement particulièrement efficace du sel souhaité a été obtenu par
25 hplc avec une colonne garnie de silice ou d'alumine et avec 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, comme un alcool aliphatique à chaîne courte tel que
30 le méthanol, l'éthanol ou le propanol, et d'un acide fort tel que l'acide benzènesulfonique, l'acide méthanesulfonique, l'acide p-toluènesulfonique et l'acide phosphorique. Un mélange chlorure de méthylène:méthanol:acide méthanesulfonique, de préférence dans un rapport de
35 80:20:0,5, s'est révélé spécialement avantageux et conduit à éluer le méthanesulfonate (mésylate) de la colonne. 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 éliminer les solvants tels que le méthanol et l'excès éventuel d'acide et le sel peut être isolé par évaporation de l'hydrocarbure chloré. Le sel souhaité peut être obtenu sous la forme d'un solide par lyophilisation d'une solution aqueuse du sel ou par dissolution dans un solvant tel qu'un éther, puis par précipitation due à l'addition d'un solvant non polaire tel que l'éther de pétrole ou le cyclohexane.

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

Les exemples suivants illustrent la présente invention.

EXEMPLE 1.-

20 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 avec de l'eau pour éliminer la triéthylamine et le bromhydrate de triéthylamine, puis on chasse le toluène sous pression réduite.

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

35 b) (R)-Tétrahydropapavérine.

On dissout du chlorhydrate de (±)-tétrahydro-

- papavérine (105 g) dans de l'eau et on alcalinise la solution avec de l'ammoniaque aqueuse diluée. On dissout la ($\pm$)-tétrahydropapavérine base précipitée dans du toluène, puis on évapore le solvant pour obtenir la base sous la
- 5 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 de laquelle le N-acétyl-L-leucinate de (S)-tétrahydropapavérine (35,5 g) se sépare graduellement
- 10 en cristaux. Après avoir séparé les cristaux par filtration, on évapore la liqueur mère à petit volume pour obtenir un solide (100 g) qu'on recristallise ensuite dans l'acétone à l'ébullition (50 volumes). Après refroidissement, il se forme des cristaux [74 g, 83% du diastéréoisomère (R) et 17%
- 15 du diastéréoisomère (S)] qu'on sépare par filtration. On recristallise le solide une fois encore dans l'acétone à l'ébullition (50 volumes) pour obtenir 58,7 g de N-acétyl-L-leucinate de (R)-tétrahydropapavérine [97% d'isomère (R) et 3% d'isomère (S)].
- 20 c) Dioxalate de (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxatri-décaméthylène)-bis-(1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-1-vératrylisoquinoléine).

On dissout du N-acétyl-L-leucinate de (R)-1,2,3,4-tétrahydropapavérine (58,7 g) dans de l'eau et

25 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

30 acétique glacial (3,0 ml) à 70°C pendant 4 heures. On dissout le mélange de réaction dans du toluène (400 ml) et on l'agite avec du gel de silice 60 (Merck, qualité pour colonne chromatographique, n° 70 à 230), on filtre le tout et on évapore le liquide pour obtenir une huile jaune. On

35 dissout le produit dans de l'acétone (600 ml) et on y ajoute de l'acide oxalique (9,3 g) qui fait 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%.

- 5 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 bicarbonate 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 recueillir 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, qui est 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.

25 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.

- 30 e) Méthanesulfonate 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 de bésylate de (1R,1'R)-atracurium (10 g) obtenu au stade d) dans du dichlorométhane (50 ml) et on le pompe sur une colonne de chromatographie de 500 mm sur 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 qu'on 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) se présentant sous la forme d'un solide qu'on identifie comme étant sensiblement exempt d'autres isomères géométriques et optiques du composé, à savoir sous la forme d'un 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) soit comme décrit, soit par chromatographie de la façon précisée ci-après.

On dissout un mélange d'isomères de bésylate de (1R,1'R)-atracurium [1,5 g des isomères recueillis 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 sur 25 mm en compression axiale garnie de 80 g de silice sphérique de 10 μm , puis on élue la colonne avec un mélange de dichlorométhane, de méthanol et d'acide benzènesulfonique 4000:500:0,25. On collecte les fractions de l'éluat de la colonne et on combine les

fractions contenant l'isomère 1R-cis,1'R-cis souhaité qu'on lave avec de la saumure à 10% ou de l'eau. On évapore la solution dans le dichlorométhane à siccité, on dissout l'huile ou le semi-solide résiduel 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) se présentant sous la forme d'un solide blanc qu'on identifie comme étant sensiblement exempt d'autres isomères géométriques et optiques du composé, à savoir sous la forme d'un 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 l'analyse suivante à la 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 & para-bésylate), 7,78 (m, ortho-bésylate).

Tous 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.-Dose unitaire de solution injectable.

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

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

EXEMPLE 4.-Solution injectable multidose.

	Constituant actif		100 mg
	Acide benzènesulfonique	q.s. pour pH	3 à 4
15	Alcool benzylique		90 mg
	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 suivant les besoins avec l'acide. On stérilise la solution par filtration et on l'introduit dans des ampoules stériles de 10 ml.

EXEMPLE 5.-Solution injectable lyophilisée.

	Constituant actif		50 mg
25	Acide benzènesulfonique	q.s. pour pH	3 à 4
	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 suivant les besoins avec l'acide. On stérilise

la solution par filtration et on l'introduit dans des fioles stériles, puis on la lyophilise.

Evacuation pharmacologique.

On a évalué le mésylate de 1R-cis,1'R-cis-
5 atracurium (dit ci-après composé A) de la façon décrite
ci-dessous par comparaison avec le mélange habituel
d'isomères géométriques et optiques (dit ci-après bésylate
d'atracurium) pour déterminer l'activité de blocage
neuromusculaire et l'effet sur le blocage sympathique et
10 parasympathique.

a) Méthodes et matériaux.

On anesthésie des chats bâtards mâles
(Southeastern Laboratories Animal Farm), d'un poids de 2,2
à 4,25 kg, à l'aide d'un mélange de pentobarbital sodique,
15 7 mg par kg i.p., et d'alpha-chloralose, 80 mg par kg i.p.
On entretient des degrés appropriés 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
20 au moyen d'une pompe respiratoire Harvard Apparatus réglée
à 20 coups par minute. On mesure la tension artérielle à
l'aide d'une canule dans l'artère fémorale droite raccordée
à un transducteur Statham P23. On détermine le rythme
cardiaque d'après un électrocardiogramme au moyen d'un
25 tachographe Grass. On dégage le nerf sympathique cervical
droit, on le tranche à environ 5 cm depuis le ganglion
cervical supérieur et on l'adapte à une électrode en platine
bipolaire blindée. On dégage le nerf vague droit, on
l'écrase à environ 2 cm en direction du ganglion nodal et
30 on l'adapte à 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
0,5 ms, tension supramaximale (10 à 15 volts). On enregistre
35 les contractions isométriques de la membrane nictitante sous
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 sur la membrane nictitante est de 5 g.

On assujettit fermement la patte arrière gauche
5 et on dégage le tendon du tibia qu'on attache à un transducteur à déplacement de force Grass FT.03. Après avoir tranché le tronc du nerf sciatique, on adapte le nerf péronier à une électrode en platine bipolaire blindée. On applique ensuite des stimuli d'une durée de 0,2 ms sous un
10 voltage supramaximal au nerf à une allure de 0,15 Hz avec un stimulateur Grass S88. On enregistre la tension de contraction dans le nerf sciatique poplité contre une tension de repos de 50 g.

On dissout les composés expérimentaux dans de la
15 solution physiologique salée tamponnée à un pH de 3,0 et on les conserve sur glace, puis on les administre avec une canule insérée 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
20 37 et 38°C au moyen d'un rayonnement calorifique. On effectue tous les enregistrements 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.

25 b) Résultats.

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

On calcule de façon analogue la DE_{50} et la DE_{25}
30 pour l'effet inhibiteur des composés, respectivement sur la stimulation parasympathique (nerf vague) et sympathique. Les résultats sont résumés au tableau suivant.

TABLEAU

Composé	DE ₉₅ calc.* (mg/kg)	Rapport de l'inhibition de 50% du nerf vague à la DE ₉₅	Rapport de l'inhibition sympathique de 25% à la DE ₉₅
Bésylate d'atracurium	0,092 ± 0,010	17	34
Composé A	0,062 ± 0,008	27	60

5

* DE₉₅ calculée en mg/kg de base libre, sur la base du poids du cation atracurium.

R E V E N D I C A T I O N S

- 1.- Sel de 1R-cis,1'R-cis-atracurium sensiblement exempt de ses autres isomères géométriques et optiques.
- 5 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 2, en mélange avec moins de 2% p/p de ses
10 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-
15 atracurium suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3.
- 6.- Sel de 1R-cis,1'R-cis-atracurium physiologiquement acceptable suivant l'une quelconque des revendications précédentes, à utiliser en thérapeutique
20 chirurgicale ou médicale.
- 7.- Sel de 1R-cis,1'R-cis-atracurium physiologiquement acceptable suivant la revendication 6 pour induire le blocage neuromusculaire chez un animal.
- 8.- Utilisation d'un sel de 1R-cis,1'R-cis-
25 atracurium physiologiquement acceptable suivant l'une quelconque des revendications 1 à 5 pour la fabrication d'un médicament pour induire le blocage neuromusculaire.
- 9.- Composition pharmaceutique comprenant un sel de 1R-cis,1'R-cis-atracurium physiologiquement acceptable
30 suivant l'une quelconque des revendications 1 à 5, conjointement avec un excipient physiologiquement acceptable.
- 10.- Composition pharmaceutique suivant la revendication 9, adaptée à l'administration par injection
35 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 des conditions ou réactants servant à opérer l'isolement de l'isomère 1R-cis,1'R-cis des isomères
5 géométriques correspondants contenus dans ce sel de 1R,1'R-atracurium.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BE 9100665

B0 3002

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
D,X	EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, CHIMIE THERAPEUTIQUE, vol. 19, no. 5, septembre 1984, pages 441-450, Châtenay-Malabry, FR; J.B. STENLAKE et al.: "Biodegradable neuromuscular blocking agents. Part 6. Stereochemical studies on atracurium and related polyalkylene di-esters" * Article en entier *	1-11	C 07 D 217/20 A 61 K 31/485
D,X	GB-A-1 579 822 (THE WELLCOME FOUNDATION) * Revendications *	1-11	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
			C 07 D 217/00
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
06-10-1991		HENRY J.C.	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BE 9100665
BO 3002

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 15/10/91

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
GB-A- 1579822	26-11-80	AT-B- 365579	25-01-82
		AU-B- 506657	17-01-80
		AU-A- 2037576	15-06-78
		CA-A- 1075241	08-04-80
		CH-A- 625223	15-09-81
		DE-A, C 2655883	23-06-77
		FR-A, B 2334359	08-07-77
		JP-C- 1321706	11-06-86
		JP-A- 52077069	29-06-77
		JP-B- 60043342	27-09-85
		LU-A- 76355	24-06-77
		NL-A- 7613695	14-06-77
		SE-B- 434154	09-07-84
		SE-A- 7613824	11-06-77
		US-A- 4179507	18-12-79