

pure, pendant environ trente minutes à froid, par exemple à 4 °C environ. A cette solution d'anhydride mixte on ajoute alors une solution froide d'acide 6-aminopénicillanique et une amine hydrocarbonyle tertiaire telle que la triéthylamine, par exemple dans un solvant tel que l'eau. On agite le mélange réactionnel pendant une période d'une heure environ, de manière à former le sel d'ammonium substitué du produit désiré. Le mélange peut être si désiré épuisé à un pH alcalin à l'aide d'un solvant non miscible à l'eau tel que l'éther, de manière à éliminer les matières premières inaltérées. Le produit présent dans la phase aqueuse est alors converti en acide libre, de préférence à froid sous une couche d'éther, par addition d'acide minéral étendu, par exemple de SO_4H_2 5 N, à un pH égal à 2. L'acide libre est alors extrait au moyen d'un solvant organique neutre non miscible à l'eau tel que l'éther, et l'extrait est éventuellement lavé rapidement à l'eau froide, puis séché. Le produit présent dans l'extrait étheré sous forme d'acide libre est alors converti en sel de métal ou d'amine désiré par traitement au moyen d'une base appropriée, par exemple d'une amine libre telle que la procaine ou d'une solution de 2-éthylhexanoate de potassium dans le *n*-butanol sec. Les sels sont habituellement insolubles dans les solvants comme l'éther et peuvent être recueillis à l'état pur par simple filtration.

Un autre procédé de préparation d'une solution étherée de la forme acide d'un composé selon l'invention consiste à préparer une solution aqueuse d'acide 6-amino-pénicillanique et de bicarbonate de sodium, à ajouter le chlorure d'acide et à agiter énergiquement à la température ambiante, par exemple pendant vingt à soixante minutes. Le mélange est alors épuisé à l'aide d'éther de manière à enlever les matières premières inaltérées ou hydrolysées. On acidifie alors la solution à un pH égal à 2 et on extrait au moyen d'éther la forme acide libre du produit. On sèche cet extrait étheré, par exemple au moyen de sulfate de sodium anhydre, et on enlève l'agent déshydratant, de manière à obtenir une solution étherée sèche de laquelle le produit peut être facilement isolé, de préférence sous forme d'un sel soluble dans l'éther tel que le sel de potassium. On applique ce procédé quand le chlorure d'acide réagit avec une amine primaire plus rapidement qu'avec l'eau, ce qu'on détermine par un essai simple. Dans ce procédé, le chlorure d'acide peut être remplacé par une quantité équimolaire du bromure d'acide ou de l'anhydride d'acide correspondant.

Certaines des substances antibiotiques obtenues par le procédé selon l'invention étant des composés relativement instables, subissant facilement des modifications chimiques aboutissant à une perte d'activité antibiotique, il est désirable de choisir

des conditions réactionnelles suffisamment modérées pour éviter leur décomposition. Les conditions réactionnelles choisies dépendent naturellement en grande partie de la réactivité du réactif chimique utilisé. Dans la plupart des cas, il y a lieu de trouver un compromis entre l'utilisation de conditions très modérées pendant une période prolongée et de conditions plus énergiques pendant une période plus courte, avec la possibilité de décomposition d'une partie de la substance antibiotique.

La température choisie pour le procédé de préparation des dérivés d'un acide 6-aminopénicillanique ne doit en général pas dépasser 30 °C, et dans de nombreux cas la température appropriée est la température ambiante. L'utilisation de conditions fortement acides ou alcalines dans le procédé selon l'invention devant être évitée, il semble préférable de mettre en œuvre le procédé à un pH allant de 6 à 9, ce qui peut être effectué commodément à l'aide d'un tampon tel qu'une solution de bicarbonate de sodium ou un phosphate de sodium. Indépendamment de l'utilisation de milieux aqueux pour la réaction, y compris les bouillons de fermentation filtrés contenant l'acide 6-amino-pénicillanique en solution aqueuse, on peut avoir recours à des solvants organiques, par exemple à la diméthylformamide, à la diméthylacétamide, au chloroforme, à l'acétone, à la méthyl-isobutyl-cétone et au dioxane. Il est souvent satisfaisant d'ajouter une solution aqueuse d'un sel d'acide 6-aminopénicillanique à une solution de l'agent acylant dans un solvant inerte et de préférence dans un solvant inerte miscible à l'eau comme l'acétone ou la diméthylformamide. Il est naturellement judicieux d'agiter énergiquement quand il existe plus d'une phase, par exemple des phases solide et liquide ou deux phases liquides.

La réaction terminée, on isole les produits, si désiré, par les techniques appliquées à la benzylpénicilline et la phénoxy-méthyl-pénicilline. Ainsi, le produit peut être épuisé au moyen d'éther diéthylique ou de *n*-butanol à un pH acide, puis récupéré par lyophilisation ou par conversion en un sel insoluble dans le solvant, par exemple par neutralisation au moyen d'une solution *n*-butanolique de 2-éthylhexanoate de potassium, ou bien il peut être précipité de la solution aqueuse sous forme d'un sel insoluble dans l'eau d'une amine, ou récupéré directement par lyophilisation, de préférence sous forme d'un sel de sodium ou de potassium. Quand il est sous forme de sel de triéthylamine, le produit est converti en sa forme acide libre, puis en d'autres sels, de la manière utilisée pour la benzylpénicilline et pour les autres pénicillines. Ainsi, le traitement d'un tel composé de triéthylamine au sein d'eau à l'aide de soude le convertit en sel de sodium, et la triéthylamine peut

être enlevée par extraction, par exemple à l'aide de toluène. Le traitement du sel de sodium à l'aide d'acide aqueux fort convertit le composé en sa forme acide, qui peut elle-même être convertie en d'autres sels d'amine, par exemple de procaine, par réaction avec l'amine. Les sels ainsi formés sont isolés par lyophilisation ou, si le produit est insoluble, par filtration. Un procédé d'isolement du produit sous forme de sel de potassium cristallisé consiste à extraire le produit à partir d'une solution aqueuse acide (par exemple à un pH égal à 2) au moyen d'éther diéthylique, à sécher la couche étherée et à ajouter au moins un équivalent d'une solution concentrée de 2-éthylhexanoate de potassium dans le *n*-butanol sec. Le sel de potassium qui se forme précipite généralement à l'état cristallisé et est recueilli par filtration ou décantation.

Les exemples suivants, donnés à titre non limitatif, montrent comment l'invention peut être mise en œuvre.

Exemple 1. — A 1,53 g (0,015 mol/g) d'acide alphaméthylbutyrique (acide 2-méthyl-*n*-butanoïque) dissous dans 30 ml de dioxane pur et sec à 10 °C, on ajoute 3 ml de triéthylamine. Après dix minutes d'agitation, on ajoute goutte à goutte 2,2 g (0,016 mol/g) de chlorocarbonate d'isobutyle dans 20 ml de dioxane en trente minutes, en refroidissant. On agite la solution ainsi obtenue pendant cent-soixante minutes et, pendant qu'elle est à 10 °C, on ajoute goutte à goutte en trente minutes une solution dans 30 ml d'eau et ml de triéthylamine de 3,46 g (0,016 mol/g) d'acide 6-amino-pénicillanique. On agite la solution pendant trente minutes à 10 °C et pendant trois heures à la température ambiante. Après addition de 40 ml d'eau, on épuise la solution à deux reprises au moyen de portions de 100 ml d'éther, puis on recouvre de 100 ml d'éther, on règle à un pH acide au moyen d'acide sulfurique 5 N, ce qui met l'acide 6-(2-méthyl-*n*-butyramido)pénicillanique en liberté à partir de son sel de triéthylammonium. On épuise le produit à deux reprises au moyen de 100 ml d'éther et on lave le mélange des extraits étherés à l'aide de 100 ml d'eau, on sèche pendant dix minutes en agitant sur du sulfate de sodium anhydre et on filtre. L'addition en une fois de 9,4 ml de *n*-butanol sec contenant 0,373 g/ml de 2-éthylhexanoate de potassium précipite le sel de potassium du produit, qu'on recueille par filtration, qu'on sèche et qui pèse alors 3,60 g. Il est soluble dans l'eau et se décompose par chauffage à 170-175 °C. Il contient le noyau bêta-lactame comme le montre l'analyse aux infra-rouges, il inhibe le *Staph. aureus* Smith à la concentration de 0,31 mcg/ml et sur le même microorganisme, par injection intramusculaire chez la souris, il présente une dose curative chez 50 % des sujets (DC₅₀) de 4 mcg/kg.

Exemple 2. — A une solution de 1,23 g (0,0085 mol/g) d'acide 2-éthylhexanoïque et de 1,4 ml (0,01 mol/g) de triéthylamine dans 35 ml de dioxane pur et sec à 10 °C, on ajoute 1,31 ml de chlorocarbonate d'isobutyle. On ajoute alors une solution de 2 g d'acide 6-amino-pénicillanique dans 1,4 ml de triéthylamine dans 10 ml d'eau et 10 ml d'acétone en cinq à dix minutes. On agite la solution pendant deux heures à la température ambiante, on étend à l'aide de 250 ml d'eau et on épuise au moyen d'éther, qu'on rejette. On acidifie la solution aqueuse à un pH égal à 2 à l'aide d'acide sulfurique étendu, en refroidissant au bain de glace, et on épuise à l'aide d'environ 50 ml d'éther. On sèche l'extrait étheré contenant le produit, qui est l'acide 6-(2-éthylhexanoamido)pénicillanique, sur du sulfate de sodium anhydre, et on filtre. L'addition de 4,7 g de 2-éthylhexanoate de potassium dans le butanol à 40 % précipite le sel de potassium du produit, qu'on recueille par décantation, qu'on sèche sur de l'anhydride phosphoreux et dont le poids est de 2 g. Ce composé est soluble dans l'eau, il fond à 85-88 °C, il contient la structure bêta-lactame comme le montre l'analyse aux infra-rouges, il inhibe le *Staph. aureus* Smith à la concentration de 0,31 mcg/ml et il possède une DC₅₀ de 1,3 mg/kg par injection intramusculaire chez la souris contre le *Staph. aureus* Smith.

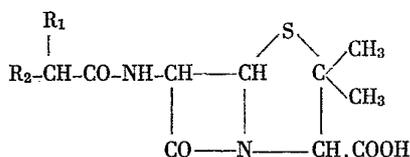
Exemple 3. — On agite 0,01 mol/g d'acide diéthylacétique (dénommé également acide 2-éthylbutyrique), 0,011 mol/g de triéthylamine et 0,01 mol/g de chlorocarbonate d'isobutyle dans 20 ml de dioxane pur et sec et 2 ml d'acétone sec, pendant environ trente minutes à 4 °C environ. A cette solution on ajoute alors une solution refroidie de 0,01 mol/g d'acide 6-amino-pénicillanique et de 0,01 mol/g de triéthylamine dans 20 ml d'eau, et on agite le mélange pendant environ une heure à froid. Après addition de 1,0 g de bicarbonate de sodium dans 30 ml d'eau froide, on épuise la solution à deux reprises au moyen de portions de 75 ml d'éther, et on jette les extraits étherés. On refroidit la solution aqueuse et on l'agite au bain de glace, on la recouvre à l'aide de 75 ml d'éther et on règle à un pH égal à 2 au moyen d'acide sulfurique 5 N. On sépare l'éther et on épuise de nouveau la solution aqueuse au moyen de 75 ml d'éther. On sèche rapidement le mélange des extraits étherés contenant le produit, qui est l'acide 6-(alpha.alpha-diéthyl-acétamido)pénicillanique, sur du sulfate de sodium anhydre, et on filtre. L'addition de 6 ml de *n*-butanol sec contenant 0,373 g/ml de 2-éthylhexanoate de potassium, suivie d'une addition d'éther sec, précipite le sel de potassium du produit. Après trituration avec de l'éther, on sèche le sel de potassium du produit sous vide sur de l'anhydride phosphorique, et on recueille une poudre soluble dans l'eau qui inhibe le développe-

ment du *Staph. aureus* Smith à la concentration de 0,001 % en poids.

Exemple 4. — Dans le procédé décrit dans l'exemple 1, le remplacement de l'acide alpha-méthyl-*n*-butyrique par 0,015 mol/g respectivement d'acide alpha-méthyl-*n*-dodécanoïque, isobutyrique, alpha-méthyl-*n*-pentoïque (acide méthylpropylacétique), 2,3-diméthyl-*n*-butyrique (acide méthylisopropylacétique), alpha-méthyl-*n*-hexanoïque (acide méthylbutylacétique), alpha-éthyl-*n*-heptanoïque (acide éthylpropylacétique), alpha-*n*-butyl-*n*-hexanoïque, alpha-*n*-propyl-*n*-octanoïque, alpha-*n*-hexyl-*n*-octanoïque et alpha-méthyl-*n*-décanoïque donne respectivement les acides 6-(2-méthyl-dodécanoamido)-pénicillanique, 6-isobutyramido-pénicillanique, 6-(2-méthyl-*n*-pentanoamido)-pénicillanique, 6-(2,3-diméthyl-*n*-butyramido)-pénicillanique, 6-(2-méthyl-*n*-hexanoamido)-pénicillanique, 6-(2-éthyl-*n*-heptanoamido)-pénicillanique, 6-(2-*n*-butyl-*n*-hexanoamido)-pénicillanique, 6-(2-*n*-propyl-*n*-octanoamido)-pénicillanique, 6-(2-*n*-hexyl-*n*-octanoamido)-pénicillanique et 6-(2-méthyl-*n*-décanoamido)-pénicillanique, qu'on isole sous forme de sels de potassium solides solubles dans l'eau. Ces composés contiennent le noyau bêta-lactame comme le montre l'analyse aux infra-rouges et ils inhibent le *Staph. aureus* Smith à une concentration inférieure à 0,001 % en poids.

RÉSUMÉ

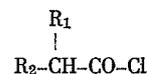
1° Acides de formule générale :



et leurs sels non toxiques, dans laquelle R₁ et R₂ sont identiques ou différents et sont des groupes alcoyle contenant de un à dix atomes de carbone, et en particulier :

- a. Acide 6-(2-méthylbutyramido)pénicillanique;
- b. Acide 6-(2-éthylhexanoamido)pénicillanique;
- c. Acide 6-(alpha.alpha-diéthylacétamido)pénicillanique;
- d. Acide 6-(2,3-diméthyl-*n*-butyramido)pénicillanique;
- e. Acide 6-(2-méthyl-*n*-pentanoamido)pénicillanique, ainsi que leurs sels non toxiques.

2° Procédé de préparation des composés spécifiés sous 1°, consistant à faire réagir l'acide 6-amino-pénicillanique ou un de ses sels neutres avec un chlorure d'acide de formule



dans laquelle R₁ et R₂ ont les significations précédentes, ou avec un équivalent fonctionnel de celui-ci, à titre d'agent acylant d'un groupe aminique primaire.

3° Mode de mise en œuvre de ce procédé, selon lequel l'agent acylant est un anhydride mixte d'un chlorocarbonate d'alcoyle préparé par réaction de l'acide correspondant au chlorure d'acide avec un chlorocarbonate d'alcoyle et une amine hydrocarbonyle ou aliphatique tertiaire, au sein d'un solvant inerte anhydre.

Société dite :

BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED

Par procuration :

Cabinet MAULVAULT