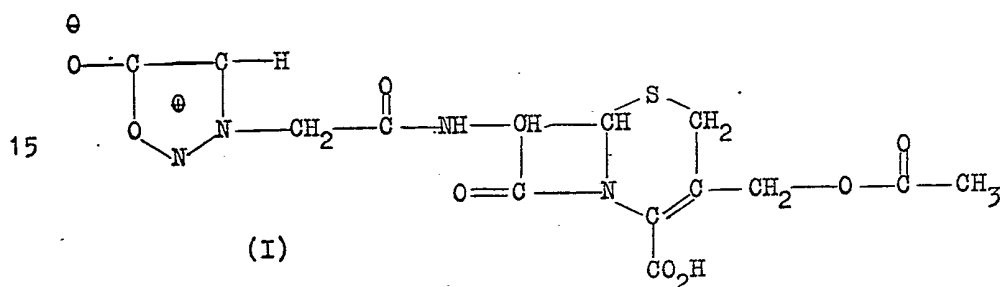




BREVET D'INVENTION

- ⑪ N° du procès verbal de dépôt 175.524 - Paris.
- ⑫ Date de dépôt 27 novembre 1968, à 15 h 12 mn.
Date de l'arrêté de délivrance 3 janvier 1972.
- ⑫ Date de publication de l'abrégé descriptif au
Bulletin Officiel de la Propriété Industrielle. 11 février 1972 (n° 6).
- ⑫ Classification internationale C 07 d//A 61 k.
- ⑫ Procédé de préparation de dérivés de l'acide céphalosporanique et produits obtenus.
- ⑫ Invention de :
- ⑫ Déposant : Société dite : BRISTOL LABORATORIES INTERNATIONAL S.A. Société panaméenne, résidant au Japon.
- Mandataire : Simonnot, Rinuy, Simonnot, Santarelli.
- ⑫ Priorité conventionnelle :
- ⑫ ⑫ ⑫ Brevet déposé aux États-Unis d'Amérique le 28 novembre 1967, n° 686.301 aux noms de Takayuki Naito et Susumu Nakagawa.

La présente invention concerne un procédé de préparation de nouveaux composés synthétiques ayant un intérêt comme agents antibactériens, comme compléments alimentaires de la nourriture des animaux, comme agents pour le traitement de la mammite du bétail et comme agents thérapeutiques pour les volailles et les animaux, y compris l'être humain, dans le traitement de maladies infectieuses provoquées par des bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Plus spécialement, l'invention se rapporte à un procédé de préparation de l'acide 7-(sydnone-3-acétamido)-céphalosporanique ayant la formule développée :



20

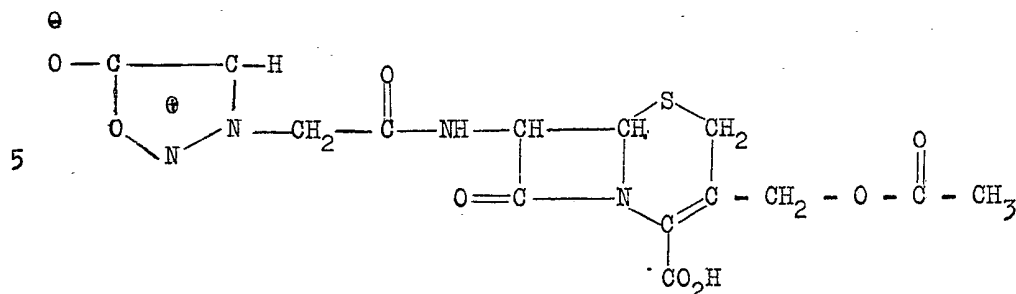
et ses sels non toxiques, pharmaceutiquement acceptables.

Les dérivés de l'acide céphalosporanique sont connus en pratique pour être utiles comme agents antibactériens. L'acide 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanique de la présente invention, qui est caractérisé par la substitution d'un fragment sydnone-3-acétyle sur la fonction amine de l'acide 7-aminocéphalosporanique, était jusqu'alors inconnu ou non divulgué par la technique antérieure.

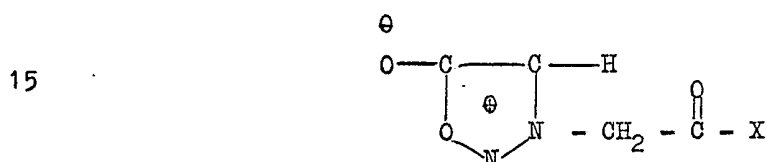
Par conséquent, la présente invention se propose de préparer :

- de nouveaux dérivés de céphalosporine qui sont non toxiques et présentent une forte action antibactérienne à l'encontre des bactéries tant Gram-positives que Gram-négatives ;
- une céphalosporine qui est très résistante à une destruction par la céphalosporinase et qui possède une bonne action bactériocide indépendante de son aptitude à résister à la céphalosporinase.

La présente invention fournit un procédé de préparation du composé de formule :



- 10 ou ses sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables, caractérisé en ce qu'il consiste à acyler l'acide 7-aminocéphalosporanique avec un agent d'acylation de formule :



- 20 dans laquelle X est un atome de chlore, de brome ou d'iode, ou avec son équivalent fonctionnel comme agent d'acylation, dans un système solvant comprenant de l'eau ou un mélange d'eau et d'un solvant organique inerte non miscible à l'eau, en présence d'une base, à une température comprise entre -10° et +45°C.

- 25 Les sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables comprennent, par exemple, (1) les sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables du groupe acide carboxylique comme les sels de sodium, de potassium, de calcium, d'aluminium et d'ammonium et les sels d'ammonium non toxiques substitués et d'amines comme les tri-
 30 (alkyl inférieur)amines, la procaine, la dibenzylamine, la N-benzyl-bêta-phénéthylamine, la 1-éphénamine, la N,N'-dibenzyl-éthylènediamine, la déshydroabiéthylamine, la N,N'-bis-déshydroabiéthyléthylènediamine, les N-(alkyl inférieur)pipéridines comme la N-éthylpipéridine, et d'autres amines qui ont été utilisées
 35 pour former des sels de benzyl-pénicilline. Ils comprennent aussi les esters facilement hydrolysés ou amides de ces acides qui peuvent être transformés en acide libre par hydrolyse chimique ou enzymatique.

- Les "équivalents fonctionnels" qui peuvent être utilisés
 40 comme agents d'acylation dans le procédé de la présente invention sont bien connus des spécialistes et comprennent les anhydrides

- d'acides correspondants; y compris les anhydrides mixtes, et en particulier les anhydrides mixtes préparés à partir d'acides plus forts comme les monoesters aliphatiques inférieurs d'acide carbonique, d'acides alkyl- et aryl-sulfoniques, et d'acides présentant
- 5 davantage d'empêchement stérique comme l'acide diphenylacétique. En outre, on peut utiliser un azide d'acide ou un ester ou thioester actif (par exemple avec le p-nitrophénol, le 2,4-dinitrophénol, le thiophénol, l'acide thioacétique) ou l'acide libre proprement dit peut être fixé à l'acide 7-aminocéphalosporanique
- 10 après avoir d'abord fait réagir l'acide libre avec le chlorure de N,N'-diméthylchloroformiminium [(voir/brevet britannique n° 1.008.170 et Novak et Weichet, "Experientia" XXI/6 360 (1965)), ou en utilisant des enzymes ou un N,N'-carbonyldiimidazole ou un N,N'-carbonylditriazole [voir le brevet de la République Sud-
- 15 Africaine n° 63/2684] d'un carbodiimide réactif, en particulier le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide, le N,N'-diisopropylcarbodiimide ou le N-cyclohexyl-N'-(2-morpholinoéthyl)-carbodiimide ; [Voir Sheehan et Hess, "J. Amer. Chem. Soc." 77, 1067 (1955)], ou une alcynylamine réactive [voir R. Buijle et H.G. Viehe, "Angew. Chem.
- 20 International", Edition 3, 583 (1964)], ou une céténimine réactive [voir l'ouvrage de C.L. Stevens et M.E. Mond, "J. Amer. Chem. Soc.", 80, 4065 (1958)], ou un sel d'isoxazolium réactif [voir R.B. Woodward, R.A. Olofson et H. Mayer, "J. Amer. Chem. Soc.", 83, 1010 (1961)]. Un autre équivalent de l'anhydride est un azolide
- 25 correspondant, c'est-à-dire un amide de l'acide correspondant dont l'azote de la fonction amide fait partie d'un noyau pentagonal quasi-aromatique contenant au moins deux atomes d'azote, c'est-à-dire l'imidazole, le pyrazole, les triazones, le benzimidazole, le benzotriazole et leurs dérivés substitués. Comme exemple du
- 30 processus général de préparation d'un azolide, on fait réagir le N,N'-carbonyldiimidazole avec un acide carboxylique en des proportions équimolaires à la température ambiante dans du tétrahydrofurane, du chloroforme, du diméthylformamide ou un solvant inerte analogue pour former l'imidazolide d'acide carboxylique en un rendement
- 35 pratiquement quantitatif avec dégagement d'anhydride carbonique et d'une mole d'imidazole. Les acides dicarboxyliques donnent des diimidazolides. Le sous-produit, à savoir l'imidazole, précipite et peut être séparé et l'imidazolide peut être isolé, mais ceci n'est pas essentiel. Les processus permettant d'effectuer ces réactions
- 40 pour produire une céphalosporine et les processus utilisés pour isoler la céphalosporine ainsi produite sont bien connus en pratique

(brevets des Etats-Unis d'Amérique n° 3.079.314, n° 3.117.126 et n° 3.129.224 et brevets britanniques n° 932.644, n° 957.570 et n° 959.054).

Les solvants organiques inertes non miscibles à l'eau utiles dans le stade d'acylation décrit ci-dessus sont bien connus des spécialistes. Des solvants appropriés comprennent par exemple le benzène, l'éther de diéthylo, le chloroforme, la méthyl-isobutylcétone, l'acétate d'éthyle, le chlorure de méthylène, le tétrachlorure de carbone, le toluène et le chlorobenzène.

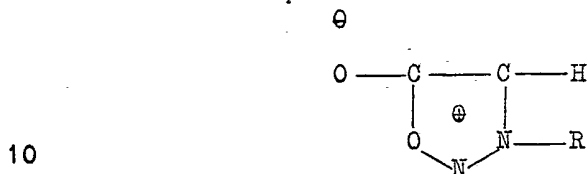
Comme dans la plupart des réactions chimiques, on peut utiliser des températures supérieures ou inférieures à celles décrites en particulier dans le présent exposé. Cependant, des températures sensiblement supérieures à celles utilisées ont tendance à produire de plus faibles rendements en raison d'un plus fort degré de réactions secondaires, alors que des températures sensiblement inférieures à celles décrites ont tendance à produire soit des rendements bas en raison des vitesses moindres de réaction, soit des durées de réaction excessivement longues. On obtient les meilleurs résultats à des températures de l'ordre de 0°C.

Les bases préférées auxquelles on peut avoir recours dans le procédé ci-dessus comprennent les carbonates de métaux alcalins, les bicarbonates de métaux alcalins, une pyridine ou un hydroxyde. Des exemples de telles bases sont l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium, l'hydroxyde de calcium, l'hydroxyde d'aluminium, la pyridine, le bicarbonate de sodium, le bicarbonate de potassium, le carbonate de sodium et le carbonate de potassium. Les bases que l'on préfère le plus sont le bicarbonate de sodium ou la pyridine. Pour obtenir les rendements maxima, il est préférable d'utiliser un excès de base, de préférence un excès d'au moins deux fois.

Il est évident pour les spécialistes que les proportions molaires d'agent d'acylation et d'acide 7-aminocéphalosporanique peuvent varier dans une large gamme, et que l'un ou l'autre peut être utilisé en excès. Cependant, pour obtenir les rendements maxima, il est préférable de se servir d'un rapport de 1,0 à 2 moles environ d'agent d'acylation par mole d'acide 7-aminocéphalosporanique, et on préfère utiliser un rapport compris entre 1,0 et 1,2 mole d'agent d'acylation par mole d'acide 7-aminocéphalosporanique.

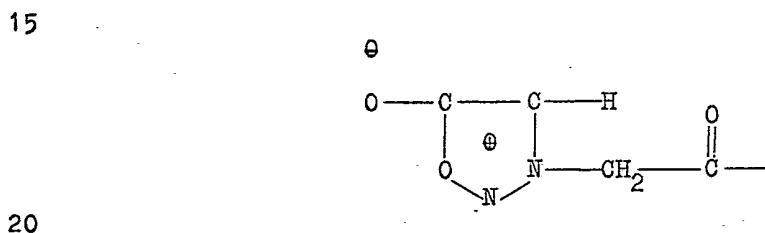
La synthèse des composés connus sous le nom de sydnones a d'abord été effectuée par Earl et Mackney ["J. Chem. Soc.", 7, pages 899 à 900 (1935)]. Différents chercheurs ont depuis effectué

des recherches sur leur synthèse et leurs structures [Baker et Ollis, "Quarterly Reviews" (Londres), pages 15 à 29, janvier 1957; Stewart, "Chem. Reviews", 64 (2), pages 129 à 147, avril 1964] et l'on admet en général que la structure de la molécule de sydnone est la mieux représentée par la structure ci-dessous :



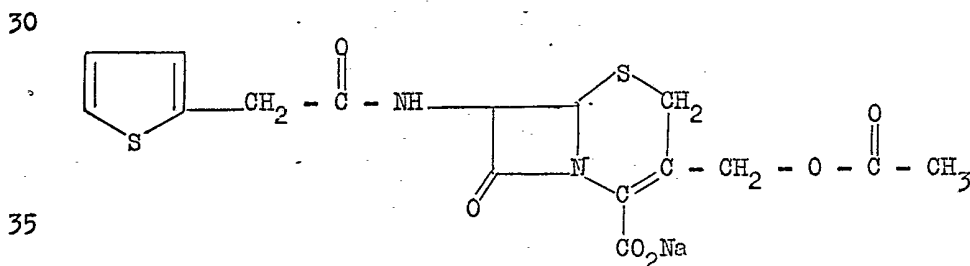
dans laquelle R est un groupe alkyle inférieur.

Aux fins de la présente description, le fragment sydnone-3-acétyle sera représenté par ce qui suit :



L'acide sydnone-3-acétique utilisé comme matière de départ dans la présente invention est préparé suivant le processus de F.H. Stewart "Chem. Ind." (Londres), page 1411, 2 septembre 1961.

25 Un composé préparé par le procédé de la présente invention, à savoir le 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanate de sodium, a été comparé au composé disponible dans le commerce sous le nom de céphalothine et qui a la structure suivante :



Le tableau I illustre les concentrations inhibitrices minimales (C.I.M.) de la céphalothine en comparaison du sel sodique du composé I pour divers micro-organismes.

40

TABLEAU I

Bactéries Gram-positives		Céphalo-thine C.I.M. (micro- grammes/ml)	Céphalo-thine C.I.M. (micro- grammes/ml)
5	B. anthracis	A-9504	0,3
	D. pneumoniae	A-9585	0,03
	D. pneumoniae	A-15046	0,03
	D. pneumoniae	A-15059	0,03
	D. pneumoniae	A-15069	0,1
10	List. monocytogenes	A-15121	2,0
	List. monocytogenes	A-20025	2,0
	Staph. aureus	A-9537	0,1
	Staph. aureus	A-9497	0,06
	Staph. aureus	A-15034	0,3
15	Staph. aureus	A-15092	3,3
	Staph. aureus	A-15094	0,1
	St. faecalis	A-9536	32,0
	St. faecalis	A-9575	32,0
	St. faecalis	A-9854	32,0
20	St. faecalis	A-20020	32,0
	St. pyogenes	A-9604	0,03
	St. pyogenes	A-15040	0,1
	St. pyogenes	A-20065	0,03
	St. pyogenes	A-20066	0,06
25	<u>Gram-négatives</u>		
	A. aerogenes	A-9432	2,0
	A. aerogenes	A-9532	2,0
	A. cloacae	A-9656	500,0
	Alc. faecalis	A-9423	2,0
30	Br. bronchiseptica	A-9901	8,0
	E. coli	A-15010	8,0
	E. coli	A-15119	8,0
	E. coli	A-9660	4,0
	E. coli	A-15169	32,0
35	E. coli	A-9435	125,0
	Herellea sp.	A-15125	500,0
	K. pneumoniae	A-9977	4,0
	K. pneumoniae	A-9867	2,0
	K. pneumoniae	A-9678	16,0
40	K. pneumoniae	A-15130	32,0

TABLEAU I (suite)

			Céphalotine C.I.M. (micro- grammes/ml)	Composé I C.I.M. (micro- grammes/ml)
5	K. aerobacter	A-15154	> 500,0	32,0
	Mima polymorpha	A-15120	32,0	63,0
	Pr. mirabilis	A-9900	32,0	4,0
	Pr. mirabilis	A-9554	> 500,0	63,0
	Pr. morganii	A-15153	> 500,0	63,0
10	Pr. morganii	A-15166	63,0	8,0
	Pr. morganii	A-20031	< 1,0	2,0
	Pr. morganii	A-9553	> 500,0	250,0
	Pr. rettgeri	A-15167	63,0	4,0
	Pr. vulgaris	A-9436	0,5	4,0
15	Pr. vulgaris	A-9699	63,0	32,0
	Pr. vulgaris	A-9526	250,0	63,0
	Ps. aeruginosa	A-9843	> 500,0	> 250,0
	Ps. aeruginosa	A-9923	> 500,0	> 250,0
	Ps. aeruginosa	A-9930	> 500,0	> 250,0
20	Ps. aeruginosa	A-15150	> 500,0	> 250,0
	Ps. aeruginosa	A-15194	> 500,0	> 250,0
	Sal. typhosa	A-9498	4,0	2,0
	Ser. marcescens	A-20019	> 500,0	> 250,0
	Sh. flexneri	A-9684	250,0	16,0
25	Sh. sonnei	A-9516	2,0	4,0
	V. comma	A-9548	0,3	4,0

Le tableau I montre l'activité in vitro remarquable du composé I à l'encontre de souches de Escherichia coli et de

30 Klebsiella pneumoniae. Certaines espèces de Proteus sont également beaucoup plus sensibles au composé I qu'à la céphalothine.

Le composé I est également plus actif que la céphalothine in vivo à l'encontre de diverses bactéries Gram-négatives. Lorsqu'on l'administre à des souris par injection intramusculaire, la dose

35 curative moyenne (DC_{50}) du composé I à l'encontre de E. coli BX-1373 est de 5,6 mg/kg en comparaison de 11 mg/kg pour la céphalothine. La DC_{50} du composé I à l'encontre de E. coli Juhl est de 14 mg/kg en comparaison de 260 mg/kg pour la céphalothine.

Le tableau II montre la vitesse de destruction relative de
40 la céphalothine (0,001 M) en comparaison du sel sodique du composé

I (0,001 M), en présence de β -lactamase (céphalosporinase) provenant de bactéries Gram-négatives à 37°C.

T A B L E A U II

5	Source d'enzymes	Quantité d'enzyme, en mg	Vitesse d'hydrolyse
			du composé I en tant que pourcentage de celle de céphalothine
	<i>Shigella flexneri</i>		
10	A15152	178	23
	<i>Proteus morganii</i>		
	A15149	720	20
	<i>Escherichia coli</i>		
	A15147	460	< 1,5
15	<i>Aerobacter-Klebsiella</i>		
	sp. A15156	900	< 2,9
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	A15150	810	< 3,8

Comme on peut le voir d'après le tableau II, la destruction du composé I est notablement plus lente que celle de la céphalothine avec toutes les préparations d'enzyme soumises aux essais. Du fait que les études utilisant des processus de titrage iodométrique indiquent que ces préparations d'enzymes hydrolysent le noyau bêta-lactame de la céphalothine, on peut conclure que le composé I a une résistance aux bêta-lactamases des diverses espèces bactériennes Gram-négatives très supérieure à celle de la céphalothine.

Dans le traitement d'infections bactériennes chez l'être humain, les composés de la présente invention sont administrés par voie orale ou parentérale, suivant les processus classiques utilisés pour une administration d'antibiotique. Bien que les doses dans chaque cas soient du ressort du médecin (et dépendent de facteurs comme la gravité de la maladie et le poids du malade), les doses habituelles sont comprises entre 2 et 50 mg/kg/jour et, de préférence de 15 mg/kg/jour environ, en doses fractionnées, par exemple trois ou quatre fois par jour. Elles sont administrées en doses unitaires contenant, par exemple, 125 ou 250 ou 500 mg d'ingrédient actif avec des véhicules ou excipients appropriés physiologiquement acceptables. Les doses unitaires peuvent être sous la forme de

préparations liquides comme des solutions, dispersions ou émulsions ou sous forme solide comme des comprimés, capsules, etc.

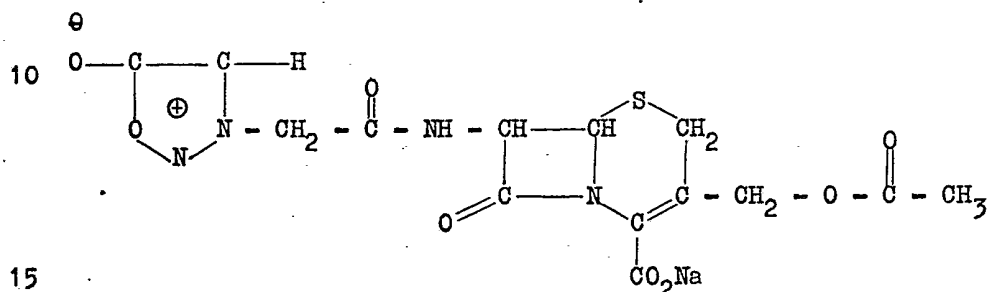
Il est bien entendu que le présent brevet ne couvre pas les applications thérapeutiques des produits obtenus.

Les exemples suivants sont donnés à titre illustratif, mais nonlimitatif, de l'invention.

5 Description des formes de réalisation préférées

EXEMPLE 1

7-(sydnone-3-acétamido)-céphalosporanate de sodium



On secoue par intermittence pendant une demi-heure à la température ambiante un mélange de 1 g (0,007 mole) d'acide sydnone-3-acétique et 2 g (0,0095 mole) de pentachlorure de phosphore dans 50 ml de chlorure de méthylène anhydre. On ajoute lentement la solution de chlorure de sydnone-3-acétyle à 0°C à un mélange agité de 1,9 g (0,007 mole) de 7-ACA et de 6 g (0,07 mole) de bicarbonate de sodium dans 20 ml d'eau et 30 ml d'acétate d'éthyle. On agite le mélange réactionnel à 10°C pendant 20 minutes. On rejette la couche organique. On recouvre la couche aqueuse avec 50 ml d'acétate d'éthyle et on ajuste le pH à 2,0 avec de l'acide chlorhydrique à 20 % en agitant à 5°C. On sépare la couche d'acétate d'éthyle contenant l'acide, à savoir l'acide 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanique et on extrait la couche aqueuse à deux reprises avec 20 ml d'acétate d'éthyle. On mélange les solutions d'acétate d'éthyle, on les lave à l'eau, les déshydrate avec du sulfate de sodium anhydre et filtre avec 3,3 ml d'une solution à 35 % de 2-éthylhexanoate de sodium dans la méthylisobutyl-cétone. On filtre le produit précipité, le lave avec 5 ml d'acétate d'éthyle et le sèche sous vide sur de l'anhydride phosphorique. Rendement : 0,6 g (20 %). Point de fusion : 180-200°C (décomposition). $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1780-1740 (large), 1640, 1610, 1405 cm^{-1} . $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 269 millimicrons (ϵ 10.000).

Analyse - Calculé pour $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_8\text{SNa}\cdot\text{H}_2\text{O}$

C, 38,36 ; H, 3,45

Trouvé C, 38,65 ; 39,12 ; H, 4,31 ; 4,30.

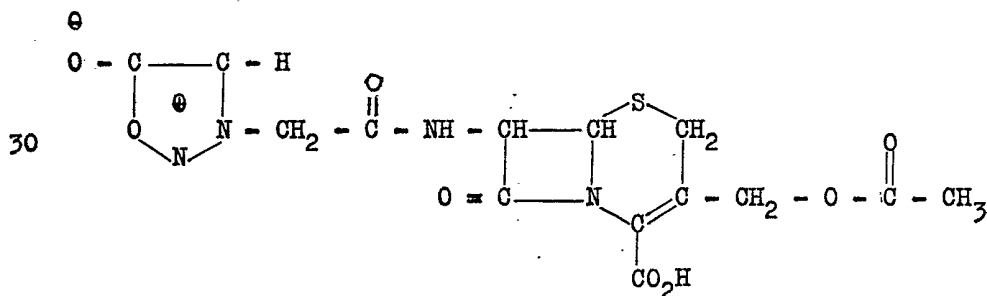
EXEMPLE 27-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanate de potassium

- On secoue par intermittence pendant une demi-heure à la température ambiante un mélange de 1 g (0,007 mole) d'acide sydnone-3-acétique et de 2 g (0,0095 mole) de pentabromure de phosphore dans 50 ml de chlorure de méthylène anhydre. On ajoute lentement la solution de bromure de sydnone-3-acétyle résultante à environ 15°C à un mélange agité de 1,6 g (0,006 mole) de 7-ACA et de 2,8 g (0,05 mole) de KOH dans 20 ml d'eau et 20 ml de CH₂Cl₂.
- On agite le mélange réactionnel à 15°C pendant 45 minutes. On sépare la couche organique et la jette. Puis on agite la couche aqueuse et lui applique une couche de 40 ml de CH₂Cl₂ et on acidifie le pH à 2,0 avec 40 % de H₃PO₄. On sépare la couche de CH₂Cl₂ et la combine avec un second extrait de CH₂Cl₂ (40 ml) puis on lave une fois avec 40 ml d'eau. On filtre les couches combinées de CH₂Cl₂ à travers Na₂SO₄ anhydre et on lave Na₂SO₄ avec trois portions de 25 ml de CH₂Cl₂. On mélange le filtrat et les liqueurs de lavage et les concentre sous vide pour obtenir une huile qui cristallise lentement. On obtient le produit, à savoir le 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanate de potassium.

Naturellement, l'invention n'est pas limitée aux formes de réalisation décrites et est susceptible de recevoir diverses variantes rentrant dans le cadre et l'esprit de l'invention.

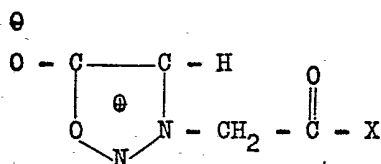
- R E S U M E -

- A - Procédé de préparation du composé de formule :



- ou de ses sels non toxiques pharmaceutiquement acceptables, caractérisé par les points suivants séparément ou en combinaisons :

1 - Il consiste à acyler l'acide 7-aminocéphalosporanique avec un agent d'acylation de formule :



- 5 où X est un atome de chlore, de brome ou d'iode, ou avec son équivalent fonctionnel comme agent d'acylation, dans un système solvant comprenant de l'eau ou un mélange d'eau et d'un solvant organique inerte non miscible à l'eau, en présence d'une base, à une température comprise entre -10° et $+45^{\circ}\text{C}$ environ.
- 10 2 - On choisit la base parmi un carbonate de métal alcalin, un bicarbonate de métal alcalin, une pyridine et un hydroxyde.
- 3 - L'agent d'acylation et l'acide 7-aminocéphalosporanique réagissent à un rapport molaire de 1,0 à 2,0 moles d'agent d'acylation par mole d'acide 7-aminocéphalosporanique.
- 15 4 - L'agent d'acylation est le chlorure de sydnone-3-acétyle.
- 5 - La base est la pyridine ou le bicarbonate de sodium.
- B - A titre de composés nouveaux :
- 1 - L'acide 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanique et
- 20 ses sels et notamment :
- (a) le 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanate de sodium ;
- (b) le 7-(sydnone-3-acétamido)céphalosporanate de potassium.

