

T.G.I. Paris 11 février 1976  
(inédit)

- BSM : indication des propriétés pharmacologiques et d'une application thérapeutique. (définition-application)

D  
O  
S  
S 1976 - III - n° 8  
I  
E  
R

GUIDE DE LECTURE

I - LES FAITS

- 5.10.1959 : BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED, société britannique dépose une demande de brevet français, sous le n° 806.723 avec priorités anglaises des 6 octobre 1958 et 12 mai 1959, pour : "dérivés de la pénicilline et leur procédé de préparation"
- 12.8.1960 : Transformation de la demande de brevet en demande de brevet spécial de médicament (BSM) pour "dérivés de la pénicilline et leur procédé de préparation",
- 6.3.1961 : Délivrance du brevet spécial de médicament 246 M ;
- 5.6.1961 : Demande de certificat d'addition sous le n° 863.883 avec priorité anglaise du 25 août 1960 pour des perfectionnements à l'invention faisant l'objet du brevet 246 M ;
- 19.3.1962 : Délivrance du certificat d'addition n° 12 CAM
- 15.9.1964 : Cession par BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED à BEECHAM-GROUP LIMITED, société britannique, du brevet et du certificat d'addition ;
- 6.11.1964 : Inscription de la cession au Registre Spécial des Brevets sous le n° 42.847.
- 18.5.1971 : Avis de nouveauté 81.743 et 71.744
- 22.12.1973 : Ordonnances du Président du Tribunal de Grande Instance de Paris autorisant des saisies contrefaçon.

- 4.1.1974 : • Saisie au siège de la Société Parisienne de Recherches et d'Expansion Thérapeutique - S.P.R.E.T.  
• Saisie dans les locaux de la Société Chimique Pointet Girard
- 18.1.1974 : BEECHAM-GROUP LIMITED assigne en contrefaçon Pointet Girard et S.P.R.E.T.  
Les défenderesses concluent à la nullité du BSM 246 M et de son addition 12 CAM à l'absence d'acte de contrefaçon dans la fabrication et la vente "en vrac" du produit de base du médicament, seul couvert par le BSM  
TGI Paris :
- 11.2.1976 : annule le BSM 246 M et le certificat d'addition 12 CAM en leurs revendications concernant l'ampicilline.

## II - LE DROIT

(Le jugement aurait pu traiter des conditions de réalisation de la contrefaçon par le fabricant du produit en vrac relativement à la fourniture de moyens en vue de la mise en oeuvre d'une invention brevetée. Le brevet et le certificat d'addition ayant été déclarés nuls en leurs revendications concernant l'ampicilline, la demanderesse a été déboutée et la question de fourniture des moyens n'a pas été traitée)

### \* TRAITEMENT DU PREMIER PROBLEME

(Application de l'article 5 § 2 du décret du 30 mai 1960 déclarant nuls les brevets spéciaux de médicament portant "sur des principes, méthodes, systèmes, découvertes et conceptions théoriques ou purement scientifiques dont on n'a pas indiqué les propriétés pharmacologiques et au moins une application thérapeutique, diététique ou de diagnostic")

#### A - LE PROBLEME

##### 1°) Prétentions des parties

##### a) Les demanderesses en annulation (SPRET et POINTET GIRARD)

prétendent que le BSM et son certificat ne satisfont point à l'exigence de l'art. 5, al. 2 du décret de 1960

##### b) Le défendeur en annulation (BEECHAM)

prétend que le BSM et son certificat d'addition satisfont aux exigences de l'art. 5 al. 2 du décret de 1960.

2°) Enoncé du problème

Que faut-il entendre par "indication des propriétés pharmacologiques et d'une application thérapeutique" au sens du décret de 1960 ?

B - LA SOLUTION1°) Enoncé de la solution

"Au sens de ce décret, les propriétés pharmacologiques d'un médicament sont les actions physiologiques (ou perturbatrices du mécanisme physiologique), révélées ou confirmées par des expériences de laboratoire in vivo et in vitro, qu'une drogue, substance ou composition exerce sur un être vivant avec lequel elle est mise en contact et qui sont liées directement à l'emploi du médicament pour guérir une maladie humaine ou animale ou en atténuer les effets"

... doivent être comprises dans les propriétés pharmacologiques les indications relatives à la toxicité du médicament bien qu'elles soient souvent traitées séparément dans la littérature médicale ou pharmaceutique car ce médicament ne pourra être employé que dans la mesure où il ne présente pas de toxicité dangereuse pour l'être vivant auquel il est administré ; qu'il s'ensuit que les propriétés pharmaceutiques doivent comprendre de même l'indication de toutes autres contre-indications d'emploi dont la méconnaissance présenterait également un danger";

"Il apparaît que les propriétés pharmaceutiques qui doivent être décrites sont celles qui sont en relation directe avec l'application thérapeutique dont le brevet fait mention ;

"Attendu que cette application thérapeutique décrit la finalité du médicament, qu'elle s'entend de la maladie que celui-ci se propose de guérir ou prévenir et de ses modalités d'utilisation, c'est-à-dire sa posologie et ses voies d'administration"

2°) Commentaire de la solution

Le tribunal reprend les termes d'un considérant visé ci-dessus de l'arrêt de la Cour de Paris du 20 mai 1972. La connaissance véritable des actions médicamenteuses, de l'efficacité de la nouvelle substance, composition ou drogue, appelle la recherche toxicologique. Chaque type de médicament nécessite : des essais sur l'animal suivant des tests normalisés permettant de connaître l'action sur les mécanismes physiologiques ; une expérimentation du dosage pour déterminer le seuil de tolérance de l'organisme. Pour l'application de la réglementation sur les BSM, propriétés pharmacologiques et toxicologiques sont imbriquées.

Peut-être s'étonnerait-on de ce que le tribunal exige que les propriétés pharmacologiques doivent comprendre de même l'indication de toutes autres contre-indications d'emploi dont la méconnaissance présenterait également un danger. Il n'est pas concevable d'exiger de l'expérimentateur que le résultat de ses travaux présente un caractère exhaustif. De plus, arguer de "la santé et de la vie d'êtres vivants pour lesquelles toute insuffisance d'indication peut être nocive

ou fatale" implique une confusion entre la nature juridique du brevet et le rôle de la procédure d'obtention de l'autorisation de mise sur le marché.

.-. S'agissant, en revanche, de l'indication d'une application thérapeutique, la définition formulée par le tribunal n'appelle aucun commentaire

#### ✕ TRAITEMENT DU SECOND PROBLEME (Application de l'article 5 § 2)

##### A - LE PROBLEME

###### 1°) Prétentions des parties

a) Le demandeur à l'annulation (SPRET et POINTET-GIRARD) prétend

- pour le brevet : que ces composés, notamment l'ampicilline, sont des pénicillines semi-synthétiques obtenues par greffage chimique d'une chaîne latérale sur l'acide 6 amino-pénicillanique ; qu'on ne pouvait donc présumer, lors du dépôt du brevet, que l'ampicilline présenterait les propriétés pharmacologiques et la fiable toxicité des pénicillines naturelles employées en thérapeutique ;

- pour le certificat d'addition : qu'il n'ajoutait pas d'enseignement relatif à l'indication des propriétés pharmacologiques.

b) Le défendeur à l'annulation (BEECHAM) prétend

- pour le brevet : que le mode d'action des composés de l'invention se déduit de l'indication que ce sont des dérivés de la pénicilline et que le brevet décrit les propriétés pharmacologiques et une application thérapeutique ;

- pour le certificat d'addition : que son objet est l'application de chacun des épimères obtenus par dédoublement de l'alpha-aminobenzul pénicilline racémique ; le dextrogyre, notamment l'isomère dextrogyre de l'alpha-amino benzul pénicilline, c'est-à-dire l'ampicilline, étant plus actif que le levogyre contre toutes sortes de bactéries in vitro ;

###### 2°) Enoncé du problème

L'indication du brevet, selon laquelle les composés de l'invention sont des agents antibactériens, illustrée par la précision de la concentration minimale inhibant le staphylocoque doré, est-elle conforme aux prescriptions de l'article 5 § 2 du décret du 30 mai 1960 .

##### B - LA SOLUTION

###### 1°) Enoncé de la solution

.. que les propriétés pharmacologiques de l'ampicilline en relation directe avec l'application thérapeutique revendiquée, à savoir le traitement des maladies infectieuses à bactéries gram-positives et gram-négatives ne consistent pas seulement dans son action inhibitrice sur ces bactéries ; qu'elles comportent, en outre, la manière dont le médicament administré à cette fin est absorbé dans l'organisme et éliminé par lui, les réactions et résistances qui peuvent s'opposer à son action ainsi que les toxicités et les contre-indications qu'il est susceptible de présenter ;

Or, attendu que le BSM 246 M qui n'est d'ailleurs que la transformation d'un brevet demandé avant la réglementation du décret du 30 mai 1960, ne comporte les indications ni de l'absorption dans l'organisme, ni des effets de la pénicilline, ni des résistances engendrées ni de sa toxicité et des contre-indications ;

\* Attendu que le décret du 30 mai 1960 exige l'indication des propriétés pharmacologiques des médicaments revendiqués et que, dans un domaine aussi grave que celui de la santé de l'homme, il n'est pas possible d'admettre que certaines de ces propriétés soient seulement sous-entendues et puissent être inférées par l'homme de métier de celles des produits de même famille et même de ceux dont le médicament est dérivé, qu'il ne peut non plus être déduit de l'absence d'indication sur la toxicité, que celle-ci serait inexistante alors que la vie du malade peut être ainsi mise en jeu ;

"Attendu que, dans ces conditions, ce brevet doit être déclaré nul en ses revendications intéressant l'ampicilline pour insuffisance d'indications relatives aux propriétés pharmacologiques et à l'application thérapeutique de ce médicament en vertu de l'article 5, 6 2 du décret du 30 mai 1960 ;

\* "Mais attendu qu'en ce qui concerne les propriétés pharmacologiques et l'application thérapeutique de l'ampicilline, l'addition n'ajoute comme enseignements nouveaux à ceux du brevet que l'indication de la concentration minimale d'inhibition de ce médicament à l'égard de 16 bactéries, mention accompagnée de celles de son épimère levogyre et de la pénicilline G, ce qui permet de les comparer ;

"Or, attendu que ces nouveaux enseignements n'apportent pas l'indication des propriétés pharmacologiques qui manquaient au brevet quant à l'absorption dans l'organisme, les effets de la pénicillinase, les résistances engendrées, la toxicité et les contre-indications non plus qu'en ce qui concerne l'application thérapeutique l'indication absente du brevet de la voie d'administration et de la posologie ;

"Attendu que ces propriétés pharmacologiques et modalités d'administration doivent être indiquées et ne peuvent, comme pour le brevet, être laissées à l'appréciation de l'homme de métier et déduites par lui des propriétés des autres pénicillines alors connues, même si à l'époque du dépôt de l'addition, étaient apparues, comme l'indique le Professeur ACAR, deux autres pénicillines semi-synthétiques ; la propicilline et la méthicilline ;

"Attendu qu'il en résulte que l'addition doit être déclarée nulle en ses revendications concernant l'ampicilline pour insuffisance d'indications relatives aux propriétés pharmacologiques et à l'application thérapeutique de ce médicament en vertu de l'article 5 §2 du décret du 30 mai 1960 ;"

## 2°) Commentaire de la solution

\* L'indication et point la démonstration des propriétés pharmacologiques et d'au moins une application thérapeutique est exigée par le décret du 30 mai 1960. Cette exigence est l'expression du concept de caractère industriel, c'est-à-dire, pour un médicament, son rôle thérapeutique.

La première exigence est-elle reprise dans la notion d'insuffisance de description selon l'art. 49 de la loi de 1968 ?

Il ne s'agit pas ici d'une impossibilité pour l'homme de métier de reproduire l'invention.

L'art. 5 § 2, dans sa prescription relative à l'indication des propriétés pharmacologiques reste une exigence formelle. La Cour de Paris en a fait une application reflétant un formalisme étroit, le 20 mai 1972, alors que les propriétés pharmacologiques découlaient nécessairement de l'application thérapeutique bien illustrée.

En la présente espèce, aucune propriété pharmacologique n'a été indiquée, lors de la transformation de la demande en BSM ; seules sont indiquées les actions observées lors d'expériences in vitro, qui ne sont pas nécessairement transposables in vivo.

Aucun exemple d'application thérapeutique précisant la posologie et la voie d'administration n'est donné contrairement à l'espèce qui vient d'être rappelée.

Les conditions d'application de l'art. 5 § 2 sont donc réunies.

• L'identification, par le dispositif, de la violation des dispositions de l'art. 5 § 2 du décret de 1960 à une insuffisance de description, est inattendue.

DROITS DE TIMBRE  
PAYES A FORFAIT

---

Décret No70-521  
du 19 JUIN 1970

---

8.315/74  
ASS. 18/1/1974

NULLITE  
BREVETS-  
DEBOUTE

N°1

AUDIENCE DU  
11 FEVRIER 1976

3e CHAMBRE  
1ère Section

4 AVOCATS  
1ère décision.

ENTRE : La Société de droit britannique BEECHAM GROUP Limited, siège à Beecham House Great West Road, BRENTFORD MIDDLESEX (Grande-Bretagne) représentée par Maître Maurice RIBADEAU DUMAS, avocat, assisté de Maître Paul MATHELY, avocat plaidant.

ET : La Société PARISIENNE DE RECHERCHES & D'EXPANSION THERAPEUTIQUE, S.P.R.E.T., siège 22/24, rue Camelinat, GENNEVILLIERS (Hauts-de-Seine) la Société CHIMIQUE POINTET GIRARD, siège 25, rue de l'Amiral Bruix, PARIS, représentées par Maîtres BODIN & LUCET, SC.P. avocats, assistés de Maître COMBEAU, avocat plaidant.

L E T R I B U N A L

siégeant en audience publique ;

Après que la cause eût été débattue en audience publique le 8 décembre 1975 devant Messieurs BARDOUILLET, Vice-Président, ROBIQUET, Premier Juge et Mademoiselle ROSNEL, Juge, assistés de CAYREL, Secrétaire-Greffier, et qu'il en eût été délibéré par les magistrats ayant assisté aux débats.

A rendu en PREMIER RESSORT le jugement contradictoire ci-après :

La Société britannique BEECHAM GROUP Limited est propriétaire en France 1°- du brevet spécial de médicament N°246 M, intitulé "Dérivés de la pénicilline et leur procédé de préparation", résultant de la transformation le 12 août 1960 d'une demande de brevet déposée le 5 octobre 1959, sous le n°806.723, avec priorités anglaises des 6 octobre 1958 et 12 mai 1959, et délivrée le 6 mars 1961 ;  
2°- du premier certificat d'addition à ce brevet demandé le 5 juin 1961 avec priorité anglaise du 25 août 1960, sous le n°863.883, et délivré le 19 mars 1962, sous le n°12 CAM ;

Le brevet et le certificat d'addition demandés et délivrés au nom de la Société BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED ont été cédés à la Société BEECHAM GROUP LIMITED par acte du 15 septembre 1964, cession inscrite au registre spécial des brevets de l'Institut National de la Propriété Industrielle le 6 novembre 1964, sous le n°42.847. Ils ont fait l'objet d'avis de nouveauté délivrés le 18 mai 1971, sous les références 81-743 et 71-744 ;

En vertu d'ordonnances rendues sur requête le 22 décembre 1973 par ce Tribunal, la Société BEECHAM GROUP LIMITED a fait effectuer saisie-contrefaçon le 4 janvier 1974, d'une part au siège de la Société Parisienne de Recherches et d'Expansion Pharmaceutiques dite S P R E T, 22/24, rue Camelinat à Gennevilliers, et d'autre part, dans les locaux de la Société Chimique POINTET-GIRARD, 101, avenue de Verdun à VILLENEUVE LA GARENNE ;

Puis, le 18 janvier 1974, la Société BEECHAM-GROUP LIMITED a assigné ces deux sociétés aux fins de faire dire que la Société POINTET-GIRARD en fabriquant et commercialisant le composé Ampicilline et la S P R E T en détenant et commercialisant ces produits pharmaceutiques contenant comme principe actif de l'Ampicilline, ont contrefait le brevet n°246 M et l'addition 12 CAM, d'ordonner la confiscation du composé Ampicilline fabriqué ou conditionné appartenant aux défendeurs, d'interdire à la Société POINTET-GIRARD de poursuivre la fabrication et la commercialisation du produit contrefait, sous astreinte définitive de 2.500 F par kg d'ampicilline, d'interdire à la S P R E T de détenir ou commercialiser le produit contrefait, sous astreinte définitive de 200 F par infraction constatée, de condamner in solidum les deux défenderesses à lui payer une indemnité à fixer suivant expertise et par provision la somme de 500.000 F et d'ordonner la publication du jugement à intervenir dans cinq périodiques de son choix et aux frais des défenderesses, le tout avec exécution provisoire ;

Les défenderesses ont conclu :

1°/ à la nullité du brevet Spécial de médicament 246 M et à son addition 12 CAM, comme ne satisfaisant pas aux

11 FEV. 76  
3e CH-I-S.

exigences de l'article 5, § 2 du décret du 30 mai 1960 auquel ils sont soumis, faute de comporter l'indication des propriétés pharmacologiques et d'au moins une application thérapeutique des produits décrits, subsidiairement à la nullité du certificat d'addition 12 CAM pour défaut de nouveauté comme ayant pour objet les épimères de l'alpha-amino-benzyl-pénicilline déjà divulgués par le brevet 246 M ;

2°/ à l'absence de contrefaçon en raison de la nullité des titres et subsidiairement pour la Société POINTET-GIRARD au motif que celle-ci se bornant à fabriquer et à vendre un produit "en vrac", le trihydrate d'ampicilline ne saurait être déclaré contrefacteur du brevet et de son addition qui, aux termes de l'ordonnance du 4 février 1959 et du décret du 30 mai 1960 ne pourraient, de toute façon, couvrir qu'un médicament tel que défini par l'article L 5 M du Code de la Santé Publique dans sa rédaction à la date du dépôt des titres ;

La Société BEECHAM GROUP a conclu au rejet de ces moyens de défense et demandes reconventionnelles et à l'adjudication du bénéfice de son assignation en y ajoutant que les condamnations s'appliqueront à tous les faits de contrefaçon commis jusqu'au prononcé du jugement ;

SUR LES INDICATIONS EXIGEES PAR L'ARTICLE 5, § 2  
DU DECRET DU 30 MAI 1960 :

Attendu que la S P R E T et la Société POINTET GIRARD demandant la nullité du BSM 246 M et de son certificat d'addition 12 CAM pour insuffisance de description en application de l'article 5, § 2 du décret du 30 mai 1960, il convient d'abord de définir les obligations imposées par ce texte ;

Attendu qu'aux termes de cet article 5, § 2, sont nuls les brevets spéciaux de médicaments concernant des médicaments "dont on n'a pas indiqué les propriétés pharmacologiques et au moins une application thérapeutique diététique ou de diagnostic" ;

Attendu qu'au sens de ce décret, les propriétés

pharmacologiques, d'un médicament sont les actions physiologiques (ou perturbatrices de mécanisme physiologique), révélées ou confirmées par des expériences de laboratoire in vivo et in vitro qu'une drogue, substance ou composition exerce sur un être vivant avec lequel elle est mise en contact et qui sont liées directement à l'emploi du médicament pour guérir une maladie humaine ou animale ou en atténuer les effets ;

Attendu que, comme le reconnaît la Société BEECHAM GROUP, doivent être comprises dans les propriétés pharmacologiques les indications relatives à la toxicité du médicament bien qu'elles soient souvent traitées séparément dans la littérature médicale ou pharmaceutique car ce médicament ne pourra être employé que dans la mesure où il ne présente pas de toxicité dangereuse pour l'être vivant auquel il est administré ; qu'il s'ensuit que les propriétés pharmaceutiques doivent comprendre de même l'indication de toutes autres contre indications d'emploi dont la méconnaissance présenterait également un danger ;

Attendu qu'il apparaît que les propriétés pharmaceutiques qui doivent être décrites sont celles qui sont en relation directe avec l'application thérapeutique dont le brevet fait mention ;

Attendu que cette application thérapeutique décrit la finalité du médicament, qu'elle s'entend de la maladie que celui-ci se propose de guérir ou prévenir et de ses modalités d'utilisation, c'est-à-dire sa posologie et ses voies d'administration ;

Attendu que c'est l'indication et non la démonstration des propriétés pharmacologiques et d'au moins une application thérapeutique, illustrée et précisée par un exemple précis qui est exigée à peine de nullité, aux termes du décret ; qu'il n'est donc pas nécessaire de décrire les expériences de laboratoire qui justifient ces propriétés et cette application, cette démonstration étant du domaine non du brevet mais de l'obtention du visa de débit ;

Attendu qu'en revanche, il ne peut être valablement

11 FEV. 76  
3e CH-I-S.

soutenu que des indications incomplètes ou imprécises seraient de nature à satisfaire aux obligations édictées alors que sont en jeu la santé et la vie d'êtres vivants pour lesquelles toute insuffisance d'indication peut être nocive ou même fatale ;

Attendu qu'il convient donc de rechercher si le BSM 246 M et le certificat d'addition 12 CAM indiquent les propriétés pharmacologiques et au moins une application thérapeutique telles qu'elles viennent d'être définies ;

SUR LE BREVET SPECIAL DE MEDICAMENT 246 M :

Attendu qu'il est indiqué au brevet que l'invention a pour objet des dérivés nouveaux de la pénicilline et notamment de l'acide 6-amino-pénicillanique obtenue par introduction dans le groupe amino de cet acide de groupes substituants amino-acylique. Il est dit que les composés selon l'invention constituent des agents antibactériens intéressants, agents thérapeutiques pour les animaux ainsi que pour l'homme, spécialement dans le traitement des maladies infectieuses causées par les bactéries gram-positives et gram-négatives. Ces dérivés peuvent être également des sels non toxiques du dérivé premier. Le brevet précise la constitution de la chaîne latérale qui a été greffée et mentionne que l'invention couvre les formes dextrogyre et lévogyre des dérivés ainsi que leur forme racémique. Après description détaillée du procédé de fabrication qui n'intéresse pas le débat, sont donnés 19 exemples de préparation des composés parmi lesquels l'exemple 11 revendiqué concerne l'alpha-amino-benzyl-pénicilline, dont l'épimère dextrogyre : l'ampicilline est en cause dans la présente instance. Il est précisé que ce composé est stable en solution acide et empêche le développement du staphylocoque doré à la concentration de 0,12 mcg-ml ;

Attendu que la Société BEECHAM GROUP soutient que le brevet décrit indique ainsi les propriétés pharmacologiques et l'application thérapeutique de l'ampicilline comme l'exige le décret du 30 mai 1960, en son article 5, § 2. En effet, sur les propriétés

pharmacologiques, il dit que les composés de l'invention sont des agents anti-bactériens d'où il résulte qu'ils agissent sur les bactéries en les inhibant. Il mentionne que cette action s'exerce sur les bactéries gram-positives et gram-négatives et précise à titre d'exemple la concentration minimale inhibant le staphylocoque doré. Le mode d'action de ces produits se déduit de l'indication que ce sont des dérivés de la pénicilline, car il s'ensuit pour l'homme de métier qu'ils ont, en outre, les propriétés générales et communes des pénicillines. Il n'est pas nécessaire de faire état de la toxicité puisqu'elle n'existe pas. La question ne peut se poser pour l'homme de métier car il s'agit de composés de la pénicilline, elle-même non toxique, cependant que la chaîne latérale de l'ampicilline est formée d'amino- et de benzyle, produits dépourvus de toxicité. Sur l'application thérapeutique, le brevet indique expressément que sont susceptibles d'être guéries les maladies infectieuses causées par les bactéries gram-positives et gram-négatives et les modalités d'administration sont indiquées dans l'exemple 11, puisqu'il y est dit que le produit est stable en milieu acide, ce qui permet à l'homme de métier de savoir qu'il ne se décompose pas dans l'estomac et peut donc être administré par voie orale et qu'est énoncée la concentration minimale inhibant le staphylocoque doré, indication qui servira de base à l'homme de métier pour l'établissement des doses ;

Attendu que la Société BEECHAM GROUP produit un avis du professeur ACAR, Chef de Service de microbiologie médicale à l'hôpital BROUSSAIS, qui déclare notamment qu'en 1959 étaient connues des pénicillines naturelles largement prescrites en thérapeutique infectieuse et qu'on connaissait également une pénicilline semi-synthétique, la phenethicilline. Ces pénicillines présentaient les propriétés communes d'être des substances antibiotiques actives contre des germes électifs administrables à l'homme et dénuées de toxicité générale en dehors de leurs effets allergisants chez une faible minorité de patients. Il était donc permis à cette date de penser qu'un nouveau produit proche de ces pénicillines ne dérogeait pas à cette règle et se comportait comme les précédentes. Le brevet indique que

11 FEV. 75  
3e CH-I-S.

les composés décrits sont des agents antibactériens. Or, il n'est pas demandé à un agent antibiotique d'avoir sur l'organisme une action pharmacologique autre que l'activité antibactérienne. Seule l'absence de toxicité est à considérer mais les propriétés pharmacologiques générales et le profil toxicologique des pénicillines connues à l'époque permettaient de cerner celles du produit considéré. La concentration minimale inhibitrice à l'égard du staphylocoque doré était nettement inférieure à celles réalisées habituellement pour les autres pénicillines, il était permis de penser que le composé aurait une activité thérapeutique sur cette sorte d'infections en superposant les propriétés du nouveau produit à celles des produits déjà connus dans la même famille. L'absence de toxicité des dérivés de la pénicilline permettait l'administration aux patients des doses requises ;

Mais attendu que les propriétés pharmacologiques de l'ampicilline en relation directe avec l'application thérapeutique revendiquée, à savoir le traitement des maladies infectieuses à bactéries gram-positives et gram-négatives ne consistent pas seulement dans son action inhibitrice sur ces bactéries ; qu'elles comportent, en outre, la manière dont le médicament administré à cette fin est absorbé dans l'organisme et éliminé par lui, les réactions et résistances qui peuvent s'opposer à son action ainsi que les toxicités et les contre-indications qu'il est susceptible de présenter ;

Or, attendu que le BSM 246 M qui n'est d'ailleurs que la transformation d'un brevet demandé avant la réglementation du décret du 30 mai 1960, ne comporte les indications ni de l'absorption dans l'organisme, ni des effets de la pénicillinase, ni des résistances engendrées ni de sa toxicité et des contre-indications ;

Attendu que le décret du 30 mai 1960 exige l'indication des propriétés pharmacologiques des médicaments revendiqués et que dans un domaine aussi grave que celui de la santé de l'homme, il n'est pas possible d'admettre

que certaines de ces propriétés soient seulement sous-entendues et puissent être inférées par l'homme de métier de celles des produits de même famille et même de ceux dont le médicament est dérivé, qu'il ne peut non plus être déduit de l'absence d'indication sur la toxicité, que celle-ci serait inexistante alors que la vie du malade peut être ainsi mise en jeu ;

Attendu, en tout cas, que dans l'espèce, il y a lieu d'observer que les composés décrits au brevet et notamment l'ampicilline sont des pénicillines semi-synthétiques obtenues par greffage chimique d'une chaîne latérale sur l'acide 6-amino-pénicillanique ; que lors du dépôt de ce brevet on ne pouvait donc présumer que l'ampicilline présenterait les mêmes propriétés pharmacologiques et notamment la faible toxicité des pénicillines naturelles déjà employés en thérapeutique en raison de l'existence de cette chaîne latérale et ce, même si les composants de celle-ci considérés séparément étaient non toxiques ; qu'on ne pouvait non plus déduire ces propriétés de celles de la phenethicilline, autre pénicilline semi-synthétique alors connue puisque les chaînes latérales étaient différentes ; qu'il s'ensuit que le BSM 246 M ne satisfait pas aux obligations d'indication des propriétés pharmacologiques exigées à peine de nullité par le décret du 30 mai 1960, en son article 5, § 2 ;

Attendu, par ailleurs, que s'il suffit d'indiquer au moins une application thérapeutique, cette indication doit préciser la voie d'administration du médicament et sa posologie ;

Or, attendu que tel n'est pas le cas en la circonstance où le brevet se contente d'indiquer que l'ampicilline est stable en solution acide et de mentionner sa concentration minimale inhibant le staphylocoque doré ;

Attendu, en effet, que les indications exigées doivent être expressément énoncées et qu'il ne suffit pas de s'en remettre à l'homme de métier pour tenter de les déduire des applications thérapeutiques des autres

pénicillines alors connues ;

11 FEV. 76  
3e CH-I-S.

Attendu, en outre, qu'en l'espèce, l'indication que l'ampicilline est stable en milieu acide implique seulement qu'elle n'est pas décomposée dans l'estomac, mais qu'il n'en résulte pas nécessairement qu'il y ait lieu de l'administrer par voie orale alors que d'autres raisons peuvent rendre préférable une autre voie d'administration et que l'indication de la concentration minimale inhibitoire ne suffit pas à fixer la posologie en l'absence de renseignements sur la toxicité et les contre-indications ; qu'il s'ensuit que le BSM 246 M ne satisfait pas non plus aux obligations d'indication d'une application thérapeutique imposées à peine de nullité par l'article 5, § 2 du décret du 30 mai 1960 ;

Attendu qu'il convient d'ailleurs d'observer que la Société BEECHAM RESEARCH LABORATORIES n'ignorait pas lorsqu'elle a transformé sa demande de brevet la portée et l'étendue des exigences formulées par ce décret, et notamment les propriétés qu'il était nécessaire d'indiquer pour les dérivés de la pénicilline ;

Attendu, en effet, que les défendeurs produisent 11 brevets spéciaux de médicaments relatifs à des composés de la pénicilline et demandés en France par cette société du 25 août 1960 au 24 janvier 1961, et que ces brevets indiquent tous de façon expresse et précise d'abord sous la rubrique "Propriétés pharmacologiques" la toxicité, l'absorption, le spectre bactéricide, l'effet de la pénicilline, l'effet des acides, l'engendrement de résistance et la protection in vivo, puis sous la rubrique : "Applications thérapeutiques" les maladies en cause, la voie d'administration et les doses à donner aux malades ;

Attendu, certes, que cette forme de présentation n'est pas en elle-même exigible, non plus que la mention des expériences effectuées qui sont du domaine de la démonstration, mais qu'il n'en résulte pas moins que ces brevets contiennent l'indication des propriétés pharmacologiques et de l'application thérapeutique qui aurait dû être énoncée dans le BSM 246 M ;

Attendu que, dans ces conditions, ce brevet doit être déclaré nul en ses revendications intéressant l'ampicilline pour insuffisance d'indications relatives aux propriétés pharmacologiques et à l'application thérapeutique de ce médicament en vertu de l'article 5, § 2 du décret du 30 mai 1960 ;

SUR L'ADDITION 12 CAM ;

Attendu qu'il est indiqué que cette addition concerne des perfectionnements à l'invention faisant l'objet du brevet 246 M, dont il est rappelé qu'il décrivait de nombreuses pénicillines possédant une activité antibiotique valable et notamment l'alpha-amino-benzyl-pénicilline obtenue à partir de l'acide alpha-amino-phényl acétique. L'objet de l'addition est le dédoublement de cet acide de forme racémique en ses épimères, ce qui permet d'obtenir ceux du produit final et il est précisé que le dextrogyre est plus actif que le levogyre contre plusieurs sortes de bactéries in vitro ; L'exemple 1 concerne l'isomère dextrogyre de l'alpha-amino benzyl pénicilline, c'est-à-dire l'ampicilline, produit revendiqué comme contrefait par les défenderesses. Un tableau indique à l'égard de 16 bactéries les concentrations minimales inhibitoires déterminées in vitro de cet isomère dextrogyre ainsi que de l'isomère levogyre et de la pénicilline G ;

Attendu que, comme le déclare la Société BEECHAM GROUP, il y a lieu de tenir compte pour cette addition non seulement des indications qu'elle comporte, mais encore de celles qui figurent au BSM 246 M auquel elle se réfère ;

Mais attendu qu'en ce qui concerne les propriétés pharmacologiques et l'application thérapeutique de l'ampicilline, l'addition n'ajoute comme enseignements nouveaux à ceux du brevet que l'indication de la concentration minimale d'inhibition de ce médicament à l'égard de 16 bactéries, mention accompagnée de celles de son épimère levogyre et de la pénicilline G, ce qui permet de les comparer ;

11 FEV. 76  
3e CH-I-S.

Or attendu que ces nouveaux enseignements n'apportent pas l'indication des propriétés pharmacologiques qui manquaient au brevet quant à l'absorption dans l'organisme, les effets de la pénicillinase, les résistances engendrées, la toxicité et les contre-indications non plus qu'en ce qui concerne l'application thérapeutique l'indication absente du brevet de la voie d'administration et de la posologie ;

Attendu que ces propriétés pharmacologiques et modalités d'administration doivent être indiquées et ne peuvent, comme pour le brevet, être laissées à l'appréciation de l'homme de métier et déduites par lui des propriétés des autres pénicillines alors connues, même si à l'époque du dépôt de l'addition, étaient apparues, comme l'indique le Professeur ACAR, deux autres pénicillines semi-synthétiques ; la propicilline et la methicilline ;

Attendu qu'il en résulte que l'addition doit être déclarée nulle en ses revendications concernant l'ampicilline pour insuffisance d'indications relatives aux propriétés pharmacologiques et à l'application thérapeutique de ce médicament en vertu de l'article 5, § 2 du décret du 30 mai 1960 ;

Attendu que le BSM 246 M et l'addition 12 CAM étant nuls en leurs revendications concernant l'ampicilline, la Société BEECHAM GROUP doit être déboutée de ses demandes en contrefaçon de ce brevet et de cette addition contre la Société POINTET-GIRARD pour détention et commercialisation d'ampicilline et contre la S P R E T pour détention et commercialisation d'un produit pharmaceutique contenant de l'ampicilline comme principe actif ;

P A R   C E S   M O T I F S

Déclare nul en ses revendications concernant l'ampicilline pour insuffisance de description le brevet Spécial de Médicament n°246 M résultant de la transformation le 12 août 1960 d'une demande de brevet déposée le 5 octobre 1959, sous le n°806.723, et délivrée le 6 mars 1971 ;

5  
Déclare nul en ses revendications concernant l'ampicilline pour insuffisance de description le premier certificat d'addition n°12 CAM à ce brevet, demandé le 5 juin 1961, sous le n°863.883, et délivré le 19 mars 1962 ;

Déboute, en conséquence, la Société BEECHAM GROUP LIMITED de ses demandes en contrefaçon de ce brevet et de cette addition contre la Société Parisienne de Recherches et d'Expansion Thérapeutique et contre la Société Chimique POINTET-GIRARD ;

Condamne la Société BEECHAM GROUP LIMITED aux dépens, en prononce distraction au profit de Maître Yves BODIN, avocat postulant.

Fait et jugé le onze février mil neuf cent soixante seize.

Le Secrétaire-Greffier  
CAYREL

Le Vice-Président  
BARDOUILLET

PAGE DOUZIEME ET DERNIERE

# BREVET SPÉCIAL DE MÉDICAMENT

MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE

P.V. n° 806.723, Transformat. M II N° 246 M

SERVICE

Classification internationale : A 61 k — C 07 d

de la PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

add. 12 C A M =  
= G B . 902203

Dérivés de la pénicilline et leur procédé de préparation.

Société dite : BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED résidant en Grande-Bretagne.

Effectuée le 12 août 1960, par poste.

Délivré par arrêté du 6 mars 1961.

(Bulletin officiel de la Propriété industrielle [B.S.M.], n° 7 de 1961.)

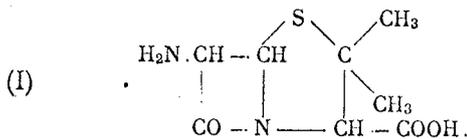
(2 demandes de brevets déposées en Grande-Bretagne les 6 octobre 1958, sous le n° 31.847/58, et 12 mai 1959, sous le n° 16.303/59, au nom de la demanderesse.)

(Transformation résultant de la demande de brevet,

P.V. n° 806.723, déposée le 5 octobre 1959.)

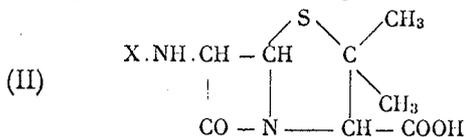
La présente invention se rapporte à des dérivés de la pénicilline et particulièrement à des dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique.

L'acide 6-amino-pénicillanique possède la formule développée :



Les recherches ayant abouti à l'invention ont montré que l'on pouvait obtenir des dérivés nouveaux de la pénicilline possédant une activité antibiotique intéressante par introduction de groupes substituants amino-acyliques dans le groupe amino de l'acide 6-amino-pénicillanique.

Ainsi, l'invention fournit des dérivés nouveaux de la pénicilline de formule générale :



dans laquelle X est un groupe aminoacyle contenant jusqu'à 20 atomes de carbone, dont la chaîne carbonée peut être substituée par d'autres groupes aminiques et dont une partie peut être présente sous forme d'un système nucléaire alicyclique, aromatique ou hétérocyclique, ainsi que leurs sels non toxiques. Quand la chaîne carbonée porte deux groupes aminiques substituants ou quand le groupe aminique est en position alpha, elle peut également contenir un groupe carboxylique.

Les composés selon l'invention constituent des

agents antibactériens intéressants, des suppléments alimentaires pour la nourriture des animaux, des agents de traitement de la mastite du bétail, et des agents thérapeutiques pour les volailles et les animaux, ainsi que pour l'homme, spécialement dans le traitement des maladies infectieuses causées par les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

Les sels sont des sels non toxiques tels que ceux de sodium, de potassium, de calcium et d'aluminium, ainsi que d'ammonium et d'ammonium substitué, par exemple d'amines non toxiques comme les trialkylamines telles que la triéthylamine, la procaine, la dibenzylamine, la N-benzyl-bêta-phénylamine, la 1-éphénamine, la N,N'-dibenzyléthylène-diamine, la déshydrobiéthylamine, la N,N'-bis-déshydroabiéthyléthylène-diamine, et d'autres amines qui ont été utilisées pour former des sels avec la benzyl-pénicilline.

L'invention concerne également un procédé de préparation de dérivés de la pénicilline de formule générale II dans laquelle X est un groupe aminoacyle contenant jusqu'à 20 atomes de carbone dont la chaîne carbonée peut porter d'autres groupes aminiques substituants et dont une partie peut être présente sous forme d'un système nucléaire alicyclique, aromatique ou hétérocyclique, et leurs sels non toxiques, consistant à faire réagir un acide amino-carboxylique protégé ou un de ses sels non toxiques avec l'acide 6-amino-pénicillanique, puis à éliminer le ou les groupes protecteurs dans des conditions suffisamment modérées pour éviter la destruction du noyau de pénicilline.

Quand la chaîne carbonée de X porte deux groupes aminiques substituants ou un groupe aminique en position alpha, elle peut également contenir un groupe carboxylique.

Des exemples de groupe X dans la forme générale II sont :

(i)  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  dans lequel  $n$  est un nombre entier de 1 à 20;

(ii)  $\text{R}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{CO}-$  dans lequel  $n$  est égal à

zéro ou est un nombre entier de 1 à 6 et R est de l'hydrogène ou un groupe alcoyle, aralcoyle, aryle ou hétérocyclique pouvant également être substitué. Ce groupe comprend les dérivés des amino-acides, l'alanine, la valine, la *nor*-valine, la leucine, l'*iso*-leucine, la phénylalanine, la tyrosine, le tryptophane, la thréonine, l'histidine, l'asparagine et la glutamine. Une classe préférée de composés entrant dans ce groupe est celle où  $n$  est égal à zéro et R est un groupe phényle, chlorophényle, méthoxyphényle, furyle ou cyclohexyle. Cette classe comprend l'alpha-aminobenzyl-pénicilline.

(iii)  $\text{HOOC}\cdot\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  et  $\text{HOOC}\cdot(\text{CH}_2)_n\cdot\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\cdot\text{CO}-$

Ce groupe comprend les dérivés de l'acide aspartique, de l'acide glutamique et de l'acide alpha-aminoadipique.

(iv)  $\text{H}_2\text{N}\cdot(\text{CH}_2)_n\cdot\underset{\text{NH}_2}{\text{CHCO}}-$

dans lequel  $n$  est un nombre entier de 1 à 4. Ce groupe comprend les dérivés de la lysine et de l'ornithine.

(v)  $\text{HOOC}\cdot\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\cdot(\text{CH}_2)_n\cdot\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\cdot\text{CO}-$

dans lequel  $n$  est égal à zéro ou un nombre entier de 1 à 3. Ce groupe comprend les dérivés de l'acide alpha:delta-diamino-adipique et de l'acide alpha:epsilon-diaminopimélique.

La majorité des dérivés mentionnés ci-avant contient au moins un atome de carbone asymétrique et existe sous les formes dextrogyre et lévogyre. L'invention couvre bien entendu ces deux formes ainsi que la forme racémique. Quand le dérivé contient deux atomes de carbone asymétriques, il existe quatre isomères et deux mélanges racémiques.

Les dérivés amino-acyliques protégés se préparent de préférence par réaction de l'acide 6-amino-pénicillanique avec un anhydride mixte préparé par réaction de l'acide amino-carboxylique ou d'un de ses sels, dont le ou les groupes aminiques sont protégés, avec un ester d'acide chlorocarbonique comme le chlorocarbonate d'éthyle. L'acide amino-carboxylique protégé peut être également converti en halogénure d'acide actif.

D'autres procédés utilisés pour former le dérivé aminoacylique sont les procédés standard appliqués

à la synthèse des peptides et comprennent l'usage d'une azide d'acide active ou d'une carbonimide (cf. Sheehan et Hess, J. Amer. Chem. Soc., 1955, 77, 1067).

L'élimination ultérieure du ou des groupes protecteurs pour former l'amino-pénicilline libre s'effectue par hydrogénation catalytique et des groupes protecteurs appropriés répondent à la formule générale  $\text{R}''\text{O}\cdot\text{CO}-$ , dans laquelle  $\text{R}''$  est un groupe allyle, benzyle, benzyle substitué, phényle ou phényle substitué ou le groupe trityle  $\text{Ph}_3\text{C}$ . « Ph » représente ici le groupe phényle.

L'élimination du ou des groupes protecteurs s'effectue en laissant le dérivé aminoacylique protégé réagir avec l'hydrogène en présence d'un catalyseur. Cette hydrogénation s'effectue normalement à la température ambiante et sous la pression atmosphérique, le pH du mélange réactionnel étant de 5 à 9. Le solvant utilisé dans la réaction d'hydrogénation est normalement l'eau, mais on peut également utiliser d'autres solvants non réductibles comme l'alcool éthylique ou le dioxane, ou des mélanges de ces solvants avec l'eau.

Le catalyseur d'hydrogénation préféré est le palladium, mais on peut utiliser d'autres catalyseurs comme le platine ou le rhodium. Le catalyseur est de préférence utilisé sur un support inerte, par exemple sur du carbonate de baryum ou du carbone.

Quand un atome de carbone voisin de celui portant le groupe carbo-benzyloxy-amino à réduire fait partie d'un noyau aromatique, comme dans le groupe (ii) ci-dessus, et quand R est aromatique et  $n$  égal à zéro, l'hydrogénation est normalement complétée en un seul traitement au moyen d'hydrogène et d'un catalyseur. Toutefois, dans tous les autres cas, c'est-à-dire quand l'atome de carbone voisin de celui portant le groupe carbo-benzyloxy-amino à réduire est de nature aliphatique, il peut être nécessaire pour effectuer une réduction complète d'effectuer l'hydrogénation en présence de deux ou plusieurs portions successives de catalyseur.

Quand l'acide amino-carboxylique contient plusieurs groupes carboxyliques, comme par exemple l'acide alpha-amino-adipique, il est nécessaire pour préparer un dérivé acylé précis de protéger un des groupes carboxyliques avant la réaction avec l'acide 6-amino-pénicillanique, ou de préparer un dérivé actif précis d'un seul des groupes carboxyliques.

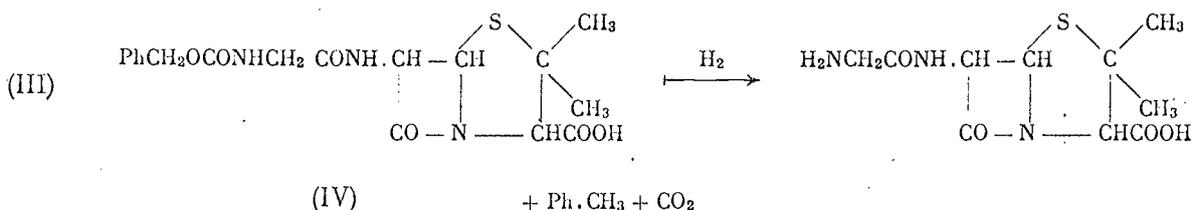
Certaines des substances antibiotiques obtenues par le procédé selon l'invention étant relativement instables et subissant des modifications chimiques qui aboutissent à la perte de l'activité antibiotique, il est désirable de choisir des conditions de réaction et d'isolement suffisamment modérées pour éviter leur décomposition.

L'exemple suivant illustre la présente invention.

*Exemple 1. — Préparation de l'aminométhyl-pénicilline.*

On secoue une suspension de palladium sur du carbonate de baryum (7,3 g à 30 %) dans 200 ml d'eau sous une atmosphère d'hydrogène, à la température ambiante et sous la pression atmosphérique, pendant deux heures. Après ce traitement, on recueille le catalyseur et on le lave soigneusement à l'eau en prenant soin qu'il ne sèche jamais. On ajoute le sel de sodium de la carbo-benzyloxy-aminométhyl-pénicilline (III) (4,5 g d'une matière titrant 40 %) à la suspension aqueuse du catalyseur prétraité et on règle le pH à 8 au moyen d'une solution à 3 % de bicarbonate de sodium. On secoue le mélange sous de l'hydrogène à la température ambiante et sous la pression atmosphérique, pendant quarante-cinq minutes. On ajoute une

seconde quantité de 7,3 g (à 30 %) de palladium sur du carbonate de baryum préalablement réduit comme ci-dessus, et on continue l'hydrogénation pendant encore quarante-cinq minutes. On sépare le catalyseur par filtration, on le lave à l'eau et après réglage à un pH égal à 7 au moyen d'acide chlorhydrique N, on évapore le filtrat à siccité sous pression réduite à une température inférieure à 20 °C. On obtient l'aminométhyl-pénicilline (IV) sous forme d'une poudre jaune (3,0 g) d'une pureté de 33 %. La chromatographie sur papier montre que cette matière ne contient qu'un antibiotique qui possède une valeur de R<sub>f</sub> très différente de la matière première. Le produit se montre stable en solution acide et empêche le développement du *Staphylococcus aureus* à une concentration de 1,25 mcg/ml.



Le sel de sodium de la carbobenzyloxy-aminométhyl-pénicilline se prépare de la manière suivante :

On ajoute goutte à goutte 1,9 ml de chlorocarbonate d'éthyle à une solution agitée refroidie par de la glace de 4,5 g de carbobenzyloxy-glycine et de 3 mm de triéthylamine dans 170 ml d'acétone anhydre. Au bout de cinq minutes, on traite lentement la suspension ainsi obtenue contenant l'anhydride mixte au moyen d'une solution glacée de 4,3 g d'acide 6-amino-pénicillanique dans 170 ml de solution aqueuse à 3 % de bicarbonate de sodium. Le mélange est maintenu à 0 °C pendant toute l'addition, mais on le laisse ensuite revenir à la température ambiante au cours d'une heure d'agitation. On lave le mélange au moyen de trois portions de 250 ml d'éther et on rejette les liqueurs de lavage. On traite la phase aqueuse au moyen d'acide chlorhydrique à un pH égal à 2 et on extrait l'acide pénicillinique libre au moyen d'une portion de 40 ml, puis de deux portions de 10 ml de butanol. On récupère le sel de sodium de la carbobenzyloxy-aminométhyl-pénicilline par une nouvelle extraction de la solution lavée au moyen de butanol à l'aide de trois portions de 5 ml d'eau, chaque portion étant additionnée d'une quantité suffisante de solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 3 % pour amener la phase aqueuse à un pH égal à 7. On lave le mélange des extraits aqueux à l'éther, puis on fait évaporer au-dessous de 20 °C sous vide et on obtient 4,7 g du sel de sodium solide.

*Exemple 2. — Préparation de la bêta-aminéthyl-pénicilline.*

On soumet à l'hydrogénation le sel de sodium de la bêta-carbobenzyloxy-aminoéthyl-pénicilline (pureté 50 %) en présence de trois portions successives de catalyseur palladium-carbonate de baryum prétraité comme décrit dans l'exemple n° 1 ce qui donne la bêta-aminoéthyl-pénicilline, d'une pureté de 30 %, avec un rendement de 40 %. La chromatographie sur papier indique la présence d'un seul antibiotique montrant une valeur de R<sub>f</sub> tout à fait différente de la matière première. Cet antibiotique est stable en solution acide et empêche le développement du *S.aureus* à la concentration de 2,5 mcg/ml.

La bêta-carbo-benzyloxy-aminoéthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare de la manière suivante :

On ajoute goutte à goutte 3,75 ml de chlorocarbonate d'éthyle à une solution refroidie par de la glace de 9,9 g de N-carbobenzyloxy-bêta-alanine et 6,7 ml de triéthylamine dans 330 ml d'acétone anhydre. Au bout de cinq minutes, on traite lentement la suspension ainsi obtenue, contenant l'anhydride mixte, au moyen d'une solution refroidie par de la glace de 8,6 g d'acide 6-amino-pénicillanique dans 330 ml de solution aqueuse à 3 % de bicarbonate de sodium. Le mélange est maintenu pendant toute l'addition à 0 °C, mais on le laisse ensuite revenir à la température ambiante au cours d'une heure d'agitation. On lave le mélange au moyen de trois portions de 300 ml d'éther et on rejette les liqueurs de lavage. On traite la phase aqueuse au moyen d'acide chlorhydrique à un pH

égal à 2 et on épise la pénicilline libre au moyen d'une portion de 50 ml, puis de deux portions de 20 ml de butanol. On recueille le sel de sodium de la carbobenzyloxy-aminoéthyl-pénicilline par une nouvelle extraction de la solution butanolique lavée au moyen de trois portions de 10 ml d'eau, chaque portion contenant une quantité suffisante de solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 3 % pour amener le pH de la phase aqueuse à 7. On lave le mélange des extraits à l'éther, puis on le fait évaporer au-dessous de 20 °C sous vide, ce qui laisse le sel de sodium solide (6,68 g).

*Exemple 3. — Préparation de la 5-aminopentyl-pénicilline.*

On soumet à l'hydrogénation le sel de sodium de la 5-carbobenzyloxy-aminopentyl-pénicilline (pureté 69 %) en présence de quatre portions successives de catalyseur pré-traité au palladium sur du carbonate de baryum, ainsi qu'il est décrit dans l'exemple n° 1, de manière à obtenir la 5-aminopentyl-pénicilline d'une pureté de 52 %, avec un rendement de 55 %. La chromatographie sur papier montre la présence d'un seul antibiotique dont la valeur de  $R_F$  est très différente de celle de la matière première.

On prépare la 5-carbobenzyloxy-aminopentyl-pénicilline utilisée dans cet exemple, avec un rendement de 56 %, à partir de l'acide 6-aminopénicillanique et d'un anhydride mixte préparé à partir d'acide 6-carbobenzyloxy-aminohexoïque et de chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général de l'exemple n° 1.

L'acide 6-carbobenzyloxy-amino-hexoïque exigé, fondant à 64 °C, se prépare avec un rendement de 81 % à partir d'acide 6-aminohexoïque et de chlorocarbonate de benzyle, dans une solution aqueuse froide de sonde.

*Exemple 4. — Préparation de l'alpha-amino-pentyl-pénicilline.*

On soumet à l'hydrogénation le sel de sodium de l'alpha-carbobenzyloxy-aminopentyl-pénicilline (pureté 56 %) en présence de trois portions successives de catalyseur pré-traité au palladium sur du carbonate de baryum, comme décrit dans l'exemple n° 1, de manière à obtenir l'alpha-aminopentyl-pénicilline, d'une pureté de 34 %, avec un rendement de 56 %. La chromatographie sur papier montre la présence d'un seul antibiotique ayant une valeur de  $R_F$  très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,12 mcg/ml.

L'alpha-carbobenzyloxy-aminopentyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 64 % à partir de l'acide 6-amino-pénicillanique et d'un anhydride mixte préparé à partir de N-carbobenzyloxy-DL-nor leucine et de chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit

dans l'exemple n° 1.

On obtient la N-carbobenzyloxy-DL-norleucine fondant à 106-107 °C avec un rendement de 70 % à partir de la DL-norleucine et du chlorocarbonate de benzyle dans une solution aqueuse froide de sonde.

*Exemple 5. — Préparation de l'alpha-amino-heptyl-pénicilline.*

On soumet le sel de sodium de l'alpha-carbobenzyloxy-aminoheptyl-pénicilline d'une pureté de 68 % à l'hydrogénation en présence de trois portions successives de catalyseur pré-traité au palladium sur du carbonate de baryum, ainsi qu'il est décrit dans l'exemple n° 1, de manière à obtenir l'alpha-aminoheptyl-pénicilline d'une pureté de 47 %, avec un rendement de 44 %. La chromatographie sur papier montre la présence d'un seul antibiotique ayant une valeur de  $R_F$  très différente de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,012 mcg/ml.

L'alpha-carbobenzyloxy-aminoheptyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 43 % à partir de l'acide 6-aminopénicillanique et d'un anhydride mixte préparé à partir de l'acide DL-alpha-carbobenzyloxy-amino-octoïque et de chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1.

L'acide DL-alpha-carbobenzyloxy-amino-octoïque nécessaire pour cette préparation s'obtient par réaction du chlorocarbonate de benzyle avec l'acide DL-alpha-amino-octoïque dans une solution étendue de sonde. On l'obtient sous forme de cristaux incolores (63 %) fondant à 91-92 °C.

Calculé pour  $C_{16}H_{23}NO_4$  : C = 65,5; H = 7,9; N = 4,7 %.

Trouvé : C = 65,7; H = 7,9; N = 4,9 %.

*Exemple 6. — Préparation de l'alpha-amino-cyclohexyl-méthyl-pénicilline.*

On soumet à l'hydrogénation le sel de sodium de l'alpha-carbobenzyloxy-amino-cyclohexyl-méthyl-pénicilline (pureté 75 %) en présence de trois portions successives de catalyseur pré-traité au palladium sur du carbonate de baryum, comme décrit dans l'exemple n° 1, de manière à obtenir l'alpha-amino-cyclohexyl-méthyl-pénicilline d'une pureté de 46 %, avec un rendement de 51 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un seul antibiotique ayant une valeur de  $R_F$  très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,12 mcg/ml.

L'alpha-carbobenzyloxy-amino-cyclohexyl-méthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 51 % à partir de l'acide 6-amino-pénicillanique et d'un anhydride mixte préparé à partir d'acide DL-alpha-carbobenzyloxy-

amino-cyclohexyl-acétique et de chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1.

L'acide DL-alpha-carbobenzoyloxy-amino-cyclohexyl-acétique, fondant à 136-137 °C se prépare avec un rendement de 80 % à partir de l'acide DL-alpha-aminocyclohexyl-acétique et du chlorocarbonate de benzyle en solution dans la soude.

Calculé pour  $C_{16}H_{21}NO_4$  : C = 65,9; H = 7,3; N = 4,8 %.

Trouvé : C = 66,2; H = 7,5; N = 4,6 %.

*Exemple 7. — Préparation de l'alpha-amino-beta-phényléthyl-pénicilline.*

On soumet à l'hydrogénation le sel de sodium de l'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-phényléthyl-pénicilline (pureté 53 %) en présence de trois portions successives de catalyseur pré-traité au palladium sur du carbonate de baryum, comme décrit dans l'exemple n° 1, de manière à obtenir l'alpha-amino-beta-phényléthyl-pénicilline d'une pureté de 30 %, avec un rendement de 49 %. La chromatographie sur papier montre que cette matière ne contient qu'un antibiotique dont la valeur de  $R_f$  est considérablement différente de celle de la matière première. Le produit est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,6 mcg/ml.

On prépare l'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-phényléthyl-pénicilline par réaction de la N-carbobenzoyloxy-beta-phényl-DL-alanine avec le chlorocarbonate d'éthyle, de manière à obtenir l'anhydride mixte actif.

On laisse alors réagir avec l'acide 6-amino-pénicillanique dans les conditions décrites dans l'exemple n° 1.

*Exemple 8. — Préparation de l'alpha-amino-beta-3-indolyléthyl-pénicilline.*

On l'obtient par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-3-indolyléthyl-pénicilline (pureté 77 %) comme décrit dans l'exemple n° 2, avec un rendement de 47 % et une pureté de 44 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un antibiotique dont la valeur de  $R_f$  est très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,5 mcg/ml.

L'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-3-indolyléthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 83 % à partir de l'acide 6-amino-pénicillanique et d'un anhydride mixte provenant du N-carbobenzoyloxy-DL-tryptophane et du chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1. Le N-carbobenzoyloxy-DL-tryptophane possède un point de fusion de 167 °C.

Calculé pour  $C_{19}H_{18}O_4N_2$  : C = 67,5; H = 5,4; N = 8,3 %.

Trouvé : C = 67,6; H = 5,5; N = 8,2 %.

*Exemple 9. — Préparation de l'alpha-amino-beta-hydroxyéthyl-pénicilline.*

On l'obtient par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-hydroxyéthyl-pénicilline (pureté 70 %) comme décrit dans l'exemple n° 2, avec un rendement de 29 % et une pureté de 21 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un antibiotique ayant une valeur de  $R_f$  très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 5,0 mcg/ml.

L'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-hydroxyéthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 67 % de l'acide 6-amino-pénicillanique et d'un anhydride mixte dérivé de la N-carbobenzoyloxy-DL-sérine et du chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1.

*Exemple 10. — Préparation de l'alpha-amino-beta-hydroxy-beta-phényléthyl-pénicilline.*

On la prépare par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-hydroxy-beta-phényléthyl-pénicilline (pureté 60 %) comme décrit dans l'exemple n° 2 avec un rendement de 53 % et une pureté de 39 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un seul antibiotique ayant une valeur de  $R_f$  très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus*.

L'alpha-carbobenzoyloxy-amino-beta-hydroxy-beta-phényléthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple se prépare avec un rendement de 46 % à partir de l'acide 6-amino-pénicillanique et d'un anhydride mixte préparé à partir de N-carbobenzoyloxy-DL-thréo-beta-phénylsérine et de chlorocarbonate d'éthyle, selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1.

On prépare la N-carbobenzoyloxy-DL-thréo-beta-phénylsérine fondant à 63-64 °C avec un rendement de 30 % à partir de la DL-thréo-beta-phényl-sérine et du chlorocarbonate de benzyle dans une solution aqueuse de soude.

*Exemple 11. — Préparation de l'alpha-amino-benzyl-pénicilline.*

On secoue une suspension de palladium sur du carbonate de baryum (3,7 g à 30 %) dans 20 ml d'eau, sous une atmosphère d'hydrogène, à la température ambiante et sous la pression atmosphérique, pendant une heure et demie. On sépare le catalyseur par filtration et on le lave soigneusement à l'eau en s'assurant qu'il ne sèche pas. On ajoute une solution du sel de sodium de l'alpha-carbobenzoyloxy-aminobenzyl-pénicilline (4 g) dans 20 ml d'eau au catalyseur pré-traité et on secoue la suspension dans une atmosphère d'hydrogène, à la température ambiante et sous la pression atmos-

phérique, pendant une heure. On sépare alors le catalyseur par filtration, on le lave soigneusement à l'eau et on règle le mélange du filtrat et des liqueurs de lavage à un pH égal à 7 au moyen d'acide chlorhydrique N. On fait évaporer alors la solution ainsi obtenue sous vide à une température inférieure à 20 °C, ce qui donne l'alpha-aminobenzyl-pénicilline (sel interne) avec un rendement de 2,4 g (74 %) d'une pureté de 48 %. La chromatographie sur papier montre que cette matière ne contient qu'un seul antibiotique dont la valeur de  $R_f$  est très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,12 mcg/ml.

On obtient le sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-aminobenzyl-pénicilline nécessaire à la préparation précitée par réaction de l'acide DL-alpha-carbobenzyl-oxy-amino-phénylacétique (1 équivalent) avec le chlorocarbonate d'éthyle (1 équivalent), avec formation de l'anhydride mixte. On laisse alors réagir avec l'acide 6-amino-pénicillanique dans les conditions décrites dans l'exemple n° 1. On obtient un solide jaune (65 %) d'une pureté de 56 %.

*Exemple 12. — Préparation de l'alpha-amino-p-méthoxybenzyl-pénicilline.*

On l'obtient selon le procédé décrit dans l'exemple n° 11 par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-p-méthoxybenzyl-pénicilline (pureté 59 %) avec un rendement de 58 % et une pureté de 41 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un antibiotique ayant une valeur de  $R_f$  très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,025 mcg/ml. On obtient l'acide DL-alpha-carbobenzyl-oxy-amino-p-méthoxy-phénylacétique à partir de l'alpha-amino-acide correspondant avec un rendement de 60 %. Point de fusion 105 °C. Calculé pour :

$C_{17}H_{17}NO_5$  : C = 64,8; H = 5,4; N = 4,4 %.

Trouvé : C = 65,0; H = 5,5; N = 4,1 %.

*Exemple 13. — Préparation de l'alpha-amino-p-chlorobenzyl-pénicilline.*

On l'obtient selon le procédé décrit dans l'exemple n° 11 par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-p-chlorobenzyl-pénicilline (pureté 42 %) avec un rendement de 88 % et une pureté de 45 %. Elle est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,06 mcg/ml. L'acide DL-alpha-carbobenzyl-oxy-amino-p-chlorophénylacétique s'obtient à partir de l'alpha-amino-acide correspondant avec un rendement de 85 %. Point de fusion 132-133 °C.

Calculé pour  $C_{16}H_{14}ClNO_4$  : C = 60,0; H = 4,4; N = 4,4 %.

Trouvé : C = 60,5; H = 4,8; N = 4,7 %.

*Exemple 14. — Préparation de l'alpha-amino-1-naphtyl-méthyl-pénicilline.*

On l'obtient selon le procédé décrit dans l'exemple n° 11 par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-1-naphtyl-méthyl-pénicilline (pureté 64 %) avec un rendement de 61 % et une pureté de 40 %. Elle est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à une concentration de 0,025 mcg/ml.

L'acide alpha-amino-1-naphtylacétique fondant à 219-220 °C se prépare selon la synthèse de Bergs-Bucherer à partir de l'alpha-naphtalaldéhyde (cf. Harvill et Herbst; J. Org. Chem., 1944, 9, 21). Avec le chlorocarbonate de benzyle dans une solution aqueuse de soude, il donne l'acide alpha-carbobenzyl-oxy-amino-1-naphtylacétique fondant à 144-145 °C, avec un rendement de 40 %. L'anhydride mixte préparé à partir de cet acide et de chlorocarbonate d'éthyle copulé avec l'acide 6-amino-pénicillanique selon le procédé général décrit dans l'exemple n° 1 donne l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-1-naphtyl-méthyl-pénicilline utilisée dans cet exemple.

*Exemple 15. — Préparation de l'alpha-amino-2-furylméthyl-pénicilline.*

On l'obtient selon le procédé décrit dans l'exemple n° 11 par hydrogénation du sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-2-furylméthyl-pénicilline (pureté 40 %) avec un rendement de 74 % et une pureté de 32 %. La chromatographie sur papier ne révèle qu'un seul antibiotique dont la valeur de  $R_f$  est très différente de celle de la matière première. Il est stable en solution acide et empêche le développement du *S. aureus* à la concentration de 0,5 mcg/ml.

On obtient le sel de sodium de l'alpha-carbobenzyl-oxy-amino-2-furylméthyl-pénicilline nécessaire à la préparation précitée par traitement de l'acide DL-alpha-carbobenzyl-oxy-amino-2-furylacétique (1 équivalent) au moyen de chlorocarbonate d'éthyle (1 équivalent) ce qui donne l'anhydride mixte. On le laisse réagir avec l'acide 6-amino-pénicillanique dans les conditions décrites dans l'exemple n° 1. On obtient un rendement de 32 % d'un solide ayant une pureté de 40 %.

L'acide DL-alpha-carbobenzyl-oxy-amino-2-furylacétique fondant à 121-122 °C s'obtient avec un rendement de 40 % par traitement de l'acide alpha-amino-2-furylacétique au moyen du chlorocarbonate de benzyle dans une solution étendue de soude.

Calculé pour  $C_{14}H_{13}O_5N$  : C = 61,1; H = 4,8; N = 5,1 %.

Trouvé : C = 61,3; H = 4,7; N = 4,9 %.

*Exemple 16. — Préparation d'un mélange des sels de sodium des alpha- et delta-amino-delta-carboxybutyl-pénicillines.*

On réduit un mélange des sels de sodium des alpha- et delta-carbobenzyl-oxy-amino-delta-carboxybutyl-pénicillines (9,0 g, pureté 55 %) au moyen





• bonée peut porter d'autres substituants aminiques et dont une partie peut être présente sous forme d'un système nucléaire alicyclique, aromatique ou hétérocycliques, et de leurs sels non toxiques, consistant à faire réagir un acide amino-carboxylique protégé ou un de ses sels avec l'acide 6-aminopénicillanique, puis à enlever le groupe protecteur ou les groupes protecteurs dans des conditions suffisamment modérées pour éviter la destruction du noyau de pénicilline.

4° Modes de mise en œuvre du procédé selon 3°, présentant les particularités suivantes, considérées séparément ou collectivement :

a. La chaîne carbonée de X porte deux substituants aminiques ou un groupe aminique en position alpha et un groupe carboxylique;

b. On fait réagir l'acide 6-aminopénicillanique avec un anhydride mixte préparé par réaction de

l'acide carboxylique à substituant aminique ou d'un de ses sels, dont le ou les groupes aminiques sont protégés avec un ester d'acide chlorocarbo-

c. Le groupe protecteur est un groupe trityle ou un groupe de formule générale  $R''O.CO-$  dans laquelle  $R''$  est un groupe alcoyle, benzyle, benzyle substitué, phényle ou phényle substitué;

d. L'élimination du groupe protecteur est effectuée par hydrogénation catalytique;

e. Le catalyseur d'hydrogénation est formé de palladium sur du carbonate de baryum.

Société dite :

BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED

Par procuration :

Cabinet MAULVAULT





D(—) alpha-amino phényl acétique dans un équivalent de soude aqueuse normale; une quantité supplémentaire de soude peut être ajoutée au cours de la réaction pour garder un pH entre 8 et 9.

On ajoute 4,8 ml de chlorocarbonate d'éthyle à une solution glacée de 14,3 g du dérivé carbobenzyloxy précédent et 8,3 ml de triéthylamine dans 420 ml d'acétone. On agite le mélange pendant 5 minutes à 0°. Pendant ce temps le chlorhydrate de triéthylamine précipite et l'anhydride mixte III se forme dans la solution. On refroidit à —50° et on agite vigoureusement en y ajoutant aussi vite que possible une solution de 13 g d'acide 6-amino pénicillanique dans 420 ml d'une solution aqueuse à 3 % de bicarbonate de sodium, la température du mélange ne devant pas dépasser 0°. On agite la solution claire résultante pendant 30 minutes à 0° et ensuite pendant 30 autres minutes pour atteindre la température ambiante et finalement on extrait trois fois par 400 ml d'éther et on retient seulement la phase aqueuse. On porte le pH de cette phase aqueuse à 2 par addition d'acide chlorhydrique et on extrait l'acide 6-[D(—) alpha (carbobenzyloxyamino) phénylacétamido] pénicillanique ainsi libéré par trois portions de 150 ml d'éther. On effectue la purification de cet intermédiaire sous forme de son sel de sodium par extraction avec une solution aqueuse de bicarbonate de sodium et, après avoir ajusté le pH à 2, on l'extrait de nouveau à l'éther sous forme d'acide libre. Enfin, il est reconverti en son sel de sodium en agitant la solution étherée avec une solution à 3 % de bicarbonate de sodium pour donner une phase aqueuse neutre en séparant cette dernière et en l'évaporant à basse température et sous basse pression. Le produit est finalement séché sur anhydride phosphorique sous vide pour donner 13 g de 6-[D(—) alpha-(carbobenzyloxyamino) phénylacétamido] pénicillanate de sodium. Celui-ci accuse une zone simple d'activité antibiotique sur le chromatogramme à papier.

On agite sous atmosphère d'hydrogène, à la température ambiante à la pression atmosphérique pendant une heure, une suspension de 38 g de palladium sur carbonate de baryum à 30 % dans 125 cm<sup>3</sup> d'eau. On ajoute alors une solution neutre de 20,4 g 6-[D(—) alpha-(carbobenzyloxy-amino) phénylacétamido] pénicillanate de sodium dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau et on continue à agiter sous hydrogène pendant une autre heure. On filtre la suspension et on amène à pH 2 avec de l'acide chlorhydrique normal le filtrat et les eaux de lavage aqueuses. On lave ensuite avec trois portions de 100 ml d'éther. On ajuste à pH 4,65 la phase aqueuse au moyen d'une solution de bicarbonate de sodium à 3 % et on concentre ensuite à basse température et à basse pression à un volume d'environ 50 ml à partir duquel se séparent de belles aiguilles inco-

lores. Après 30 minutes, on recueille les cristaux, on les lave avec un peu d'eau froide, on sèche sous vide sur anhydride phosphorique, ce qui donne 5,5 g d'acide 6-[D(—) alpha-aminophénylacétamido] pénicillanique monohydrate  $[\alpha]_D^{25} = 281^\circ$  ( $c = 1\%$  dans l'eau) se décomposant aux environs de 202 °C. Une recrystallisation dans l'eau ne change pas la rotation optique.

Analyse : C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, H<sub>2</sub>O.

Calculé : C 52,3, H 5,8, N 11,4, S 8,7 %.

Trouvé : C 52,5, H 5,7, N 11,9, S 8,9 %.

On obtient 9 autres grammes d'un produit moins pur par concentration du filtrat aqueux. Comme pour le premier jet, il présente seulement une simple zone d'activité antibiotique sur un papier chromatogramme, zone qui est différente de celle que donne l'intermédiaire carbobenzyloxy non réduit.

*Exemple 2. — Acide 6-[L(+)] alpha-amino phénylacétamido] pénicillanique.*

On prépare l'acide L(+) alpha-(carbobenzyloxy-amino) phénylacétique F. 130-130,5°,  $[\alpha]_D^{25} = +117^\circ$  ( $c = 3\%$ , éthanol) à partir de l'acide L(+) alpha-amino phénylacétique par la méthode décrite pour son énantiomorphe. Le produit (14,3 g) est converti en son anhydride mixte avec le chloroformiate d'éthyle comme il est décrit précédemment et réuni à l'acide 6-amino pénicillanique (13 g) pour donner 17,6 g de 6-[L(+)] alpha-(carbobenzyloxyamino) phényl acétamido] pénicillanate de sodium assez pur qui présente une simple zone d'activité antibiotique sur le papier chromatogramme.

On réalise l'hydrogénation de cet intermédiaire à la même échelle et par la même méthode que dans l'exemple 1. Le premier jet de cristaux (6,2 g) est formé d'acide 6-[L(+)] alpha-amino-phénylacétamido] pénicillanique pur et anhydre  $[\alpha]_D^{20} = +209^\circ$  ( $c = 0,2\%$  dans l'eau) se décomposant aux environs de 205°. Une recrystallisation dans l'eau ne change pas la rotation optique.

Analyse : C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

Calculé : C 55,0, H 5,5, N 12,0, S 9,2 %.

Trouvé : C 54,9, H 5,6, N 11,8, S 9,2 %.

On obtient six autres grammes de produit moins pur par concentration du filtrat aqueux. Comme pour le premier jet, il présente seulement une simple zone d'activité antibiotique sur un papier chromatogramme, zone qui diffère de celle présentée par l'intermédiaire carbobenzyloxy non réduit.

*Exemple 3. — On dissout une quantité totale de 7,25 g (0,0255 M) d'acide D(—) alpha-(carbobenzyloxyamino) phénylacétique (F. 128-129 °C ;  $[\alpha]_D^{25} = 116,5^\circ$  ( $c = 1\%$ , éthanol) et 4,25 ml de triéthylamine dans 210 ml d'acétone et on agite à 0 °C durant cinq minutes. On ajoute 2,4 ml*

(0,0255 M) de chloroformiate d'éthyle et on place immédiatement le mélange dans un bain acéto-neige carbonique à  $-50^{\circ}\text{C}$ . On y ajoute en une seule fois une solution de 6,5 g (0,030 mole) d'acide 6-amino pénicillanique et 16 g de bicarbonate de sodium dans 210 ml d'eau et on retire le mélange du bain acéto-neige carbonique, puis on l'agite pendant une demi-heure entre  $-10$  et  $0^{\circ}\text{C}$  et finalement pendant une demi-heure à la température ambiante. On dilue la solution avec un litre d'éther et la phase aqueuse qui se sépare est éliminée. On abaisse le pH de la solution à 2 par de l'acide chlorhydrique concentré et on extrait la pénicilline deux fois par 300 ml d'éther; l'éther est lavé à l'eau et finalement par 75 ml d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. On mélange la solution aqueuse de bicarbonate de sodium avec 8 g du carbonate de strontium à 5 % de palladium (Engelhard) et hydrogéné sous trois atmosphères dans un hydrogénateur de Parr à basse pression pendant une heure. On sépare le catalyseur par filtration et on abaisse le pH de la solution à 2 avec de l'acide chlorhydrique concentré, puis on extrait à l'éther. On ajuste le pH de la solution à 4,65 avec du bicarbonate de sodium solide et on évapore sous pression réduite (pompe à eau) à un volume de 20 ml à  $32^{\circ}\text{C}$ . Il y a cristallisation d'un solide qui, filtré, pèse 2,85 g. On recristallise 1 g dans 10 ml d'eau en abaissant le pH à 2 par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et en élevant le pH à 4,65 avec du bicarbonate de sodium solide pour donner 0,25 g de produit pur : l'acide 6-[D(—) alpha-amino phénylacétamido] pénicillanique mono-hydraté qui fond à  $201^{\circ}\text{C}$ , avec décomposition.

Analyse pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

Trouvé : N 11,14 %.

Calculé : N 11,4 %.

Rotation spécifique  $[\alpha]_D^{25} = +287^{\circ}$  ( $c = 0,1\%$  dans l'eau).

*Exemple 4.* — On ajoute à  $0^{\circ}\text{C}$  1,83 ml (0,0193 mole) de chloroformiate d'éthyle à 5,5 g (0,0193 mole) d'acide D(—) alpha-(carbobenzyloxyamino)-phénylacétique et 2,6 g (0,0243 mole) de 2,6-lutidine dans 25 ml de p-dioxanne et 25 ml d'acétone sèche. Il se forme un précipité blanc et on agite le mélange pendant 20 minutes. On y ajoute en une seule fois une solution de 4,95 g d'acide 6-amino pénicillanique dans 50 ml d'eau et 15 ml de 2,6 lutidine. On agite la solution claire pendant une demi-heure et on dilue avec 500 ml d'éther. On sépare la solution aqueuse et on ajoute du bicarbonate de sodium pour garder le pH à 8. On abaisse le pH de la solution aqueuse à 2 par addition d'acide chlorhydrique concentré et on extrait la pénicilline avec de l'éther. On lave la phase étherée avec de l'eau et on l'extrait avec 25 ml d'une solution

saturée de bicarbonate de sodium. On ajoute la solution de bicarbonate de sodium contenant la pénicilline à 10 g de terre de diatomées contenant 5 % de palladium catalyseur (Engelhard) pour former une pâte par addition de 15 ml d'eau. On hydrogène la pénicilline sous trois atmosphères dans un hydrogénateur de Parr à basse pression, durant une heure à la température ambiante. On filtre le mélange à travers un filtre Seitz pour éviter la formation de colloïde. On abaisse le pH à 2 par addition d'acide chlorhydrique concentré et on extrait à l'éther pour éliminer toute pénicilline de départ. On sépare la phase aqueuse et on ajuste le pH à 4,65 par addition de bicarbonate de sodium solide. On réduit le volume à 20 ml par évaporation sous pression réduite (pompe à eau) à  $32^{\circ}\text{C}$  et on filtre le produit solide cristallin qui est l'acide 6-[D(—) alpha-aminophénylacétamido] pénicillanique monohydraté.

Analyse :  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

Calculé : N 11,4 %.

Trouvé : 11,34 %.

*Exemple 5.* — Le procédé décrit dans l'exemple 4 ci-dessus est répété en utilisant l'acide L(+) alpha-(carbobenzyloxyamino) phénylacétique  $[\alpha]_D^{25} = +85,5^{\circ}$  ( $c = 1\%$ , éthanol) à la place de l'acide D(—) alpha-(carbobenzyloxyamino) phénylacétique. Au lieu de palladium à 5 % sur terre de diatomées comme dans l'exemple 4, on utilise du palladium à 5 % sur carbonate de strontium. Le produit, l'acide 6-[L(+) alpha-aminophénylacétamido] pénicillanique monohydraté, possède la rotation spécifique et l'analyse élémentaire suivantes :

$[\alpha]_D^{25} = +201^{\circ}$  ( $c = 0,197\%$ , eau).

Analyse :  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

Calculé : C 52,3, H 5,7, N 11,4 %.

Trouvé : C 52,44, H 5,69, N 11,26 %.

La concentration minimum inhibitrice (CMI) en  $\mu\text{g/ml}$  *in vitro* contre un certain nombre de micro-organismes Gram négatifs est déterminée par dilution sérielle sur gélose, et on fait une comparaison directe de l'activité contre ces organismes de l'acide 6-[D(—) alpha-amino-phénylacétamido] pénicillanique (A), de l'acide 6-[L(+) alpha-amino-phénylacétamido] pénicillanique (B) et de la pénicilline G.

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

(Voir tableau, page suivante)

#### RÉSUMÉ

1<sup>o</sup> Épipères de l'alpha-aminobenzyl pénicilline, l'acide 6-[D(—) alpha-aminophénylacétamido] pénicillanique, et l'acide 6-[L(+) alpha-aminophénylacétamido] pénicillanique et leurs sels non toxiques.

	C. M. I.		
	A	B	Pénicilline
	(71 % pur)	(93 % pur)	G
	µg/ml	µg/ml	µg/ml
<i>E. coli</i> .....	6,25	12,5	25,0
<i>E. coli</i> .....	12,5	12,5	50,0
<i>Proteus vulgaris</i> .....	6,25	12,5	25,0
<i>Proteus vulgaris</i> .....	2,5	12,5	6,25
<i>Salm. typhi</i> .....	0,5	2,5	2,5
<i>Salm. typhi</i> .....	0,5	1,25	2,5
<i>Salm. typhi</i> .....	0,6	2,5	2,5
<i>Salmonella typhimurium</i> .....	0,5	5,0	0,6
<i>Salm. paratyphi A</i> ...	2,5	5,0	6,25
<i>Salm. paratyphi B</i> ...	2,5	5,0	5,0
<i>Salm. paratyphi B</i> ...	2,5	5,0	6,25
<i>Salm. paratyphi B</i> ...	5,0	12,5	6,25
<i>Shigella shigæ</i> .....	1,25	5,0	5,0
<i>Shigella schmitzi</i> .....	2,5	5,0	6,25
<i>Shigella sonnei</i> .....	6,25	25,0	50,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> .	2,5	5,0	5,0

2° Procédé pour la préparation des épimères de l'alpha-aminobenzyl pénicilline et leurs sels non toxiques consistant à faire réagir l'acide 6-amino pénicillanique avec les formes D- ou L- de l'acide alpha-aminophénylacétique ayant son groupe aminé bloqué, ou un de ses sels, et à éliminer ensuite le groupe protecteur dans des conditions suffisamment

douces pour éviter la destruction du noyau pénicilline.

3° Modes de mise en œuvre du procédé, présentant les particularités suivantes, considérées séparément ou collectivement :

a. L'acide 6-amino pénicillanique réagit avec l'anhydride mixte préparé par réaction de la forme D- ou L- de l'acide alpha-aminophénylacétique, ou un de ses sels ayant son groupe amino bloqué, avec un ester de l'acide chloroformique;

b. Le groupement utilisé pour la protection de la forme D ou L de l'acide alpha-aminophénylacétique, ou un de ses sels, est un groupe trityle ou un groupe de formule générale R'' O-CO- dans laquelle R'' est un groupe alcoyle, benzyl, benzyl substitué, phényl ou phényl substitué;

c. L'élimination du groupe protecteur est effectuée par hydrogénation catalytique;

d. L'hydrogénation catalytique est conduite en présence d'un catalyseur contenant du palladium sur un support de carbonate d'un métal alcalino-terreux.

4° Epimères de l'alpha-amino benzyl pénicilline.

Société dite :

BEECHAM RESEARCH LABORATORIES LIMITED

Par procuration :

Cabinet MAULVAULT