

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 541 281

21 N° d'enregistrement national :

84 02472

51 Int Cl³ : C 07 D 513/04; A 61 K 31/52.

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 17 février 1984.

30 Priorité : US, 18 février 1983, n° 467 894.

43 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 34 du 24 août 1984.

60 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

71 Demandeur(s) : Société dite : THE JOHNS HOPKINS
UNIVERSITY, constituée selon les lois de l'Etat de Mary-
land. — US.

72 Inventeur(s) : Solomon Halbert Snyder, John William
Daly et Robert Frederick Bruns.

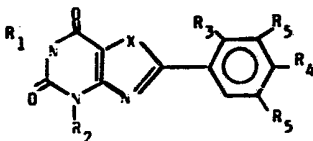
73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : Simonnot.

54 8-phénylxanthines substituées et leurs compositions destinées à bloquer les récepteurs d'adénosine.

57 8-phénylxanthines substituées et leurs compositions des-
tinées à bloquer les récepteurs d'adénosine.

Ces composés ont pour formule :



(X : NH, O, S; R₁ : allyle, alkyle, cycloalkyle; R₂ : H, allyle,
alkyle, cycloalkyle; R₃ : NaH₂, OH; R₄ : halogène, (halogéno)-
alkyle, phényle, amino, OH, COH, cycloalkyle, alcoxy, cycloal-
coxy, alkyle (oxy) amino, cycloalkylamino; R₅ : H, alkyle, alcoxy,
halogène, OH, NO₂, amino; où R₃ = H et R₄ = H).

Antagonistes des récepteurs d'adénosine, ces composés
peuvent servir de bronchodilatateurs, de cardiotoniques, de
diurétiques et de stimulants du système nerveux central.

La présente invention concerne de nouvelles 8-arylxanthines qui sont de puissants antagonistes ou agents de blocage des récepteurs d'adénosine.

Les xanthines sont des substances bien connues que l'on utilise en clinique comme bronchodilatateurs, cardiotoniques, diurétiques et stimulants du système nerveux central. L'expérience actuellement disponible indique que les actions thérapeutiques de ces substances impliquent un blocage ou antagonisme de récepteurs d'adénosine. Cependant, parmi les xanthines, de nombreuses, comme la théophylline (1,3-diméthylxanthine) ont des effets secondaires inopportuns. Certains de ces effets secondaires peuvent être dûs à des actions s'exerçant sur des sites autres que les récepteurs d'adénosine. Cependant, il est probable aussi que certains effets secondaires sont associés au blocage des récepteurs d'adénosine eux-mêmes.

Il apparaît qu'au moins certains des effets secondaires exercés par des antagonistes des récepteurs d'adénosine pourraient être évités par le développement d'agents plus puissants de blocage de tels récepteurs qui, en raison de leur action accrue de blocage, pourraient être utilisés en des doses plus faibles et risqueraient ainsi moins de produire des effets secondaires non associés au blocage des récepteurs d'adénosine. En outre, lorsque l'effet thérapeutique est dû au blocage d'un sous-type de récepteur d'adénosine alors que les effets secondaires concernent le blocage d'un sous-type différent de récepteur d'adénosine, des substances qui exercent un effet extrêmement puissant sur un récepteur et qui ont une action sensiblement moindre sur un autre récepteur d'adénosine pourraient aussi présenter une moindre probabilité d'exercer des effets secondaires.

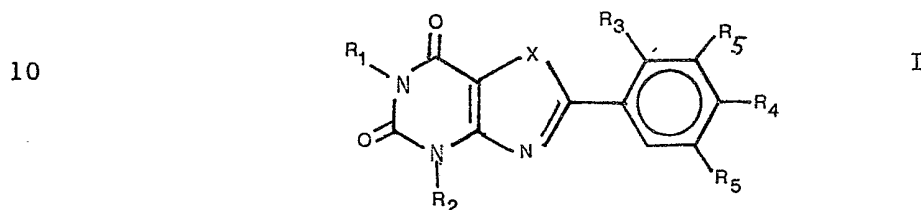
Un objet principal de la présente invention consiste à proposer un nouveau groupe de xanthines, qui sont très puissantes comme inhibiteurs ou antagonistes de récepteurs d'adénosine.

Un objet plus spécifique de l'invention consiste à proposer une série de 8-arylxanthines, spécifiquement des

8-phénylxanthines, qui sont en général des agents de blocage des récepteurs d'adénosine bien plus puissants que les xanthines antérieurement connues.

D'autres objets apparaîtront également à la lecture
5 et à l'étude du présent mémoire.

Les nouvelles 8-arylxanthines de l'invention peuvent être décrites comme étant des composés répondant à la formule développée I :



dans laquelle :

15 (a) X représente NH, O ou S ;

R_1 représente un groupe alkyle, alkyle inférieur ou cycloalkyle, le groupe alkyle inférieur ou cycloalkyle étant éventuellement substitué par au moins un groupe hydroxyle, alcoxy inférieur ou cyano ;

20 R_2 représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle, alkyle inférieur ou cycloalkyle, le groupe alkyle inférieur ou cycloalkyle étant éventuellement substitué comme décrit ci-après ;

R_3 représente NH_2 ou OH ;

25 R_4 représente un halogène, un groupe halogéno alkyle inférieur (par exemple trifluorométhyle), phényle, amino, hydroxyle, carboxyle, alkyle inférieur, cycloalkyle, alcoxy inférieur, cycloalcoxy, alcoxy (inférieur)-amino, alkylamino inférieur ou cycloalkyl amino, le groupe alcoxy
30 inférieur, alkyle inférieur ou cycloalkyle étant dans chaque cas éventuellement substitué par au moins un groupe hydroxyle, amino primaire, amino secondaire, amino ter-
tiaire ou carboxyle, à la condition que R_3 et R_4 ne soient pas tous les deux des groupes amino lorsque R_1 et R_2 sont
35 chacun un groupe méthyle ; et

les R_5 , identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle inférieur, alcoxy

- inférieur, halogéno, hydroxyle, nitro ou amino ; ou
- (b) X, R₁, R₂ et R₅ ont le sens indiqué en (a) ;
R₃ représente un atome d'hydrogène ; et
R₄ représente un atome d'hydrogène ou a le sens indiqué
- 5 en (a), sauf que R₁ représentent autre chose qu'un groupe méthyle ou éthyle lorsque R₄ représente un atome d'hydrogène ou d'halogène, un groupe alcoxy en C₁ à C₃, amino ou alkylamino et que R₅ représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ,
- 10 ou bien il s'agit des sels, esters, amides, glycosides ou complexes formés avec le formaldéhyde, pharmaceutiquement acceptables, des composés (1).

Tels qu'ils servent ci-dessus, les termes "alkyle", "alkyle inférieur", alcoxy" ou "alcoxy inférieur" sont destinés à représenter n'importe quel groupe alkyle ou alcoxy ayant

15 1 à 6 atomes de carbone, linéaire ou ramifié, par exemple un groupe méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, pentyle ou hexyle.

Les symboles R₄ et R₅ peuvent représenter n'importe lequel des halogènes. Ainsi, par exemple, R₄ peut représenter

20 un atome de chlore, de brome ou d'iode, et les R₅, identiques ou différents, peuvent représenter un atome de fluor ou de brome, bien que, de préférence, les R₅ représentent de l'hydrogène.

25 Des exemples représentatifs des substituants de type cycloalkyle comprennent un groupe cyclopropyle, cyclobutyle, cyclopentyle ou cyclohexyle.

Les substituants éventuellement fixés sur les groupes alkyles ou cycloalkyles représentés par R₂ peuvent comprendre

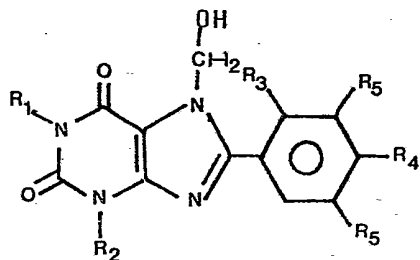
30 un groupe hydroxyle, méthoxy, amino, méthylamino, diméthylamino, carboxyle (carboxylate de méthyle), (carboxylate d'éthyle), carboxamide, diméthylcarboxamide, uréido, cyano et glycosyle. Le groupe glycosyle peut être fixé sur la chaîne alkyle par une liaison ester, amide, éther ou glycosidique.

35 Comme indiqué, on envisage les sels, esters, amides et complexes de formaldéhyde, pharmaceutiquement acceptables, des composés indiqués, ainsi que leurs glycosides. Des sels

typiques comprennent les sels de métaux alcalins ou de métaux alcalino-terreux, bien qu'il aille de soi que l'on envisage également d'autres sels non toxiques. Les xanthines dans lesquelles X représente NH peuvent former des anions à un pH alcalin (pK environ 9) et peuvent ainsi être avantageusement administrées sous forme de sels de sodium, de sels de choline, de complexes de l'éthylènediamine, etc. Les 7-thia-xanthines et 7-oxoxanthines ne forment pas d'anions, bien que de nombreux groupes envisagés ici comme substituants représentés par R puissent former des anions ou des cations. On peut donc former des sels convenables très variés.

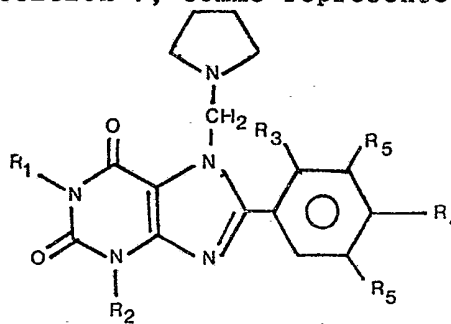
Comme noté à propos de la substitution éventuelle indiquée ci-dessus dans le cas du substituant R_2 , les glycosides peuvent être fixés sur la position 3 de la xanthine par une liaison glycosidique, amide ou équivalente. Par ailleurs, des complexes avec du formaldéhyde (ou un autre aldéhyde) seuls ou avec une amine peuvent être formés par l'intermédiaire de l'azote en position 7, comme représenté par les formules II et III :

20



25

II



III

Il y a lieu de noter que les conditions énoncées dans la définition générique ci-dessus des composés de l'invention (formule I) sont destinées à exclure des 8-phénylxanthines antérieurement connues ou même certains composés nouveaux qui, quoique nouveaux, manifestent un moindre pouvoir d'antagonistes des récepteurs d'adénosine.

Par un choix approprié des substituants R_1 à R_5 , on peut faire varier les propriétés globales, comme la solubilité dans l'eau, le pouvoir de blocage, etc., des composés

représentés par la formule I. Par exemple, des composés dans lesquels R_1 représente un groupe méthyle et R_2 un groupe isobutyle, semblent être des inhibiteurs puissants de la phosphodiesterase.

5 Le cadre des variations possibles semble relativement étroit pour le substituant R_1 . Cependant, une plus grande gamme de variations semble possible dans le cas du radical représenté par R_2 . Donc, la position de R_2 peut servir à porter les substituants qui sont fortement hydrophiles, afin
10 d'améliorer la solubilité dans l'eau, sans influencer sensiblement sur le pouvoir d'antagoniste des récepteurs d'adénosine manifesté par le composé résultant.

La nature de la substitution sur les positions correspondant à R_3 et R_4 semble importante pour des raisons de
15 solubilité et/ou de pouvoir.

Des exemples spécifiques de xanthines selon l'invention comprennent les composés suivants :

- la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- la 1,3-dipropyl-8-(2,4-diaminophényl)xanthine
- 20 la 1,3-diéthyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- le 8-(2-amino-4-chlorophényl)théophylline
- la 1,3-dipropyl-8-phényl xanthine
- la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)-7-thiaxanthine
- la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-carboxyphényl)xanthine
- 25 la 1,3-dipropyl-8-[2-amino-4(carboxyméthyl)phényl]xanthine
- la 1-méthyl-3-isobutyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- la 1-méthyl-3-carboxyméthyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- la 1-méthyl-3-(β -carboxyéthyl)-8-(2-amino-4-chlorophényl)
- 30 xanthine
- la 1-méthyl-3-(β -hydroxyéthyl)-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- la 1-méthyl-3-(γ -hydroxypropyl)-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- 35 la 1-méthyl-3-(β -diméthylaminoéthyl)-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine
- la 1-méthyl-3-(γ -diméthylaminopropyl)-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine.

Parmi les composés énumérés ci-dessus, les deux premiers (parfois désignés ici, par souci de commodité, par "B256" et "B262") manifestent une activité particulièrement remarquable de bloqueurs des récepteurs d'adénosine.

5 Un autre composé particulièrement avantageux selon l'invention est la 1,3-diallyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine. Ce composé manifeste une activité utile d'antagonis-
te des récepteurs d'adénosine et elle est également utile
comme intermédiaire ou précurseur pour fournir, par exemple,
10 une version, marquée par du tritium, de la 1,3-dipropyl-8-
(2-amino-4-chlorophényl)xanthine.

Il existe une quantité considérable de documents de l'art antérieur concernant les xanthines, ce qui comprend les 8-phénylxanthines. Par exemple, on note que le brevet
15 de la République Démocratique Allemande n° 31 772 (Derwent 14969) du 31 octobre 1961 décrit diverses xanthines compre-
nant, par exemple, la 8-phénylthéophylline (c'est-à-dire la 1,3-diméthyl-8-phénylxanthine) et des procédés pour la prépa-
rer. Le brevet belge n° 616174 (Derwent 13790) du 15 octobre
20 1964 et le brevet britannique n° 982 079 semblent équivaloir à l'exposé du brevet de la République Démocratique Allemande.
Ces brevets ne semblent pas décrire l'utilisation des composés, ici révélés, à titre d'antagonistes des récepteurs d'adéno-
sine.

25 On pense que sont connues d'après l'art antérieur les 8-phénylxanthines suivantes, notamment, que l'on présente ici, pour faciliter la référence, en utilisant la formule I (dans laquelle X représente NH et R₅ de l'hydrogène) :

| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ |
|--------|-----------------|-----------------|----------------|--|
| 30 (1) | CH ₃ | CH ₃ | H | H |
| (2) | CH ₃ | CH ₃ | H | OCH ₃ ou isopropoxy |
| (3) | CH ₃ | CH ₃ | H | NO ₂ |
| (4) | H | CH ₃ | H | H |
| (5) | CH ₃ | H | H | H |
| 35 (6) | H | H | H | H |
| (7) | phényle | phényle | H | H |
| (8) | CH ₃ | CH ₃ | H | N(C ₂ H ₅) ₂ |

| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| (9) | CH ₃ | CH ₃ | H | N(CH ₃) ₂ |
| (10) | CH ₃ | CH ₃ | Cl | Cl |
| (11) | H | CH ₃ | H | Cl |
| 5 (12) | H | CH ₃ | H | OCH ₃ |
| (13) | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₃ |
| (14) | CH ₃ | CH ₃ | H | F |
| (15) | CH ₃ | CH ₃ | H | Cl |
| (16) | H | H | H | Cl |
| 10 (17) | H | H | H | OCH ₃ |
| (18) | CH ₃ | CH ₃ | H | Br |
| (19) | H | H | H | NO ₂ |
| (20) | C ₂ H ₅ | C ₂ H ₅ | H | H |
| (21) | CH ₃ | CH ₃ | COOH | H |
| 15 (22) | CH ₃ | CH ₃ | NH ₂ | H |
| (23) | CH ₃ | CH ₃ | NHCH ₃ | H |
| (24) | CH ₃ | CH ₃ | NO ₂ | H |

La liste ci-dessus n'est que représentative et elle n'est pas supposée inclure toutes les 8-phénylxanthines antérieurement décrites. En tout cas, les composés de l'invention peuvent se distinguer des composés de l'art antérieur par l'un au moins des substituants R₁ à R₅ ou par leur combinaison.

Il y a lieu de noter que le composé (1) énuméré ci-dessus est la 8-phénylthéophylline et le composé (6) est la 8-phénylxanthine. Dans la suite du présent mémoire, on utilise les symboles T et X pour représenter respectivement la théophylline et la xanthine.

L'effet d'inhibition exercé par des xanthines sur les récepteurs d'adénosine est cité dans un article décrivant la fixation de N⁶-cyclohexyl [³H] adénosine, et de la 1,3-diéthyl-8- [³H] phénylxanthine, également désignés respectivement par commodité, par [³H]CHA et [³H]DPX sur des récepteurs d'adénosine dans la membrane du cerveau (Bruns et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, Vol. 77, N°9, pages 5547-5551, septembre 1980). Cet article décrit, notamment, le marquage, par [³H]CHA et [³H]DPAX, du sous-type à un des récepteurs d'adénosine dans des membranes de cerveau de bovin. Le pouvoir de diverses

xanthines de déplacer [³H]CHA des récepteurs A₁ d'adénosine dans les membranes du cerveau, représentant l'effet d'inhibition exercé par ces composés sur les récepteurs d'adénosine, effet mesuré par des valeurs de CI₅₀ (concentration inhibitrice moyenne) en nM dans un essai normalisé de classement, est également représenté. La théophylline, la 8-phénylthéophylline et la 8-(p-sulfophényl)-théophylline figurent parmi les xanthines ayant fait l'objet d'une telle évaluation.

Un article apparenté de Bruns, intitulé "Adenosine Antagonism by Purines, Pteridines and Benzopteridines In Human Fibroblasts" (Antagonisme de l'adénosine exercé par des purines, des ptéridines et des benzoptéridines dans les fibroblastes humains), Biochemical Pharmacology, volume 30, pages 325 à 333 (1981) donne des renseignements supplémentaires concernant le pouvoir d'antagoniste de l'adénosine de diverses xanthines (X) et théophyllines (T), ce qui comprend un certain nombre de théophyllines substituées en position 8, comme les dérivés de type 8-(p-chlorophényle), 8-(p-bromophényle), 8-(p-méthoxyphényle), 8-(nitrophényle), 8-(p-diméthylaminophényle), 8-(p-méthylphényle), 8-(3,4-dichlorophényle), 8-(o-carboxyphényle) et 8-(2,6-diméthyl-4-hydroxyphényle).

Un autre article de Snyder et al., généralement apparenté, est intitulé "Adenosine Receptors and Behavioral Actions of Methylxanthines" (Récepteurs de l'adénosine et actions des méthylxanthines sur le comportement), Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, Vol. 78, n° 5, pages 3260-3264, mai 1981.

On peut synthétiser les 8-phénylxanthines de l'invention en procédant de n'importe quelle façon commode, par exemple selon le brevet précité de la République Démocratique Allemande n° 31 772 ou son équivalent, le brevet belge n° 616 174, ou selon le brevet britannique n° 982 079. Dans un procédé préféré, on soumet le 5,6-diaminouracile approprié (lui-même préparé par réduction du 5-nitroso-6-amino-uracile) à une acylation pour former le 5-acylamino-6-amino-uracile correspondant que l'on cyclise ensuite. On peut utiliser des conditions classiques d'acylation et de cyclisation. Par exemple, on peut utiliser un acide benzoïque substitué de

façon appropriée, pour former le composé 5-acylamino. On peut, par exemple, effectuer la cyclisation en chauffant à l'ébullition dans NaOH 2,5N pendant un temps suffisant, par exemple durant 5 minutes, ou en chauffant dans POCl₃ pendant un temps approprié, par exemple égal à 20 minutes ou voisin de 20 minutes.

On peut déterminer le pouvoir des présents composés à titre d'antagonistes des récepteurs d'adénosine, en appliquant l'essai normalisé de sélection qui implique de bloquer la N⁶-cyclohexyl [³H]adénosine, qui se fixe sur des récepteurs d'adénosine comme décrit dans l'article précité (1980) de Bruns et al. En bref, tel qu'on l'utilise ici, l'essai de sélection implique les opérations suivantes :

On fait incuber durant 2 heures à 25°C 10 mg de poids humide du tissu d'origine de membranes de cerveau de bovin avec le composé essayé et 0,5 nM de [³H]CHA dans 2 ml de tris.HCl 50 nM, pH 7,7. On introduit tout d'abord dans le tube le composé d'essai et [³H]CHA, et l'on amorce l'incubation par addition du tissu. On arrête l'incubation et l'on collecte des échantillons sur des filtres "GF/B" sous vide, on lave trois fois et l'on effectue un comptage dans un détecteur à scintillation de liquide. On trace des courbes d'inhibition en fonction de la dose en utilisant 4 à 8 concentrations du composé d'essai, avec des incubations effectuées en triple. On calcule les valeurs de CI₅₀ à partir des résultats de fixation totale (pas de composés), de fixation non spécifique (10 µM de L-PIA) et avec les résultats d'inhibition en fonction de la dose, en utilisant la méthode des moindres carrés pour s'ajuster sur une courbe non linéaire correspondant à un modèle d'inhibition avec compétition. On calcule les valeurs de K_i d'après l'équation de Cheng-Prusoff (Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108 (1973)). Pour les composés dont la valeur de K_i est inférieure à 0,5 nM, on effectue des essais de fixation en utilisant 2,5 mg seulement de poids de tissu afin d'éviter des conditions dans lesquelles la concentration des récepteurs excède le K_i.

Les essais des présents composés effectués dans le

processus normalisé de sélection ci-dessus indiquent que le composé le plus actif de l'invention (B256), c'est-à-dire la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine, présente une extraordinaire activité sur les récepteurs d'adénosine, avec une valeur de K_1 pour les récepteurs A_1 d'adénosine de $2,2 \times 10^{-11}$ M lorsqu'on utilise du cerveau de bovin pour les essais. Le composé semble donc être approximativement 4 000 000 de fois plus puissant que la xanthine elle-même et 60 000 à 70 000 fois plus puissant que la théophylline.

On note, à propos de ce qui précède, que les récepteurs A_1 du cerveau de bovin présentent une affinité extraordinairement élevée pour les 8-phénylxanthines, et c'est pourquoi le cerveau de bovin a été choisi pour les essais afin de s'assurer que même des analogues moins puissants présentent des valeurs de CI_{50} au-dessous de leurs limites de solubilité. Le récepteur A_1 le plus "normal" présent dans le cerveau de rat possède une K_1 de 5 nM pour le composé B256, de 150 nM pour la 8-phénylthéophylline et 10 μ m pour la théophylline. Ainsi, bien que les deux 8-phénylxanthines soient bien moins puissantes dans le cerveau de rat que dans le cerveau de bovin, la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine (B256) est encore 30 fois environ plus puissante que la 8-phénylthéophylline et 2000 fois plus puissante que la théophylline, lorsqu'on utilise le cerveau de rat.

La théophylline est elle-même un antagoniste de l'adénosine que l'on utilise en clinique comme bronchodilatateur pour le traitement de l'asthme. Les présents composés doivent aussi être utiles de la même façon que la théophylline ou d'autres xanthines connues, si l'on se fonde sur l'inhibition indiquée ou le blocage des récepteurs d'adénosine. Cela va inclure non seulement l'utilisation à titre de bronchodilatateur dans le traitement de l'asthme, mais aussi l'utilisation pour des effets cardiotoniques dans le traitement d'une défaillance cardiaque, pour des effets diurétiques dans le traitement d'une tension sanguine élevée ou d'une défaillance rénale et pour des effets de stimulation du système nerveux central lors du traitement d'une dépression. Cependant, en

raison de leur pouvoir étonnamment supérieur à titre d'antagonistes des récepteurs d'adénosine, les présents composés doivent, en des quantités nettement plus faibles, pouvoir efficacement bloquer les récepteurs d'adénosine avec, par
5 conséquent, une diminution des éventuels effets secondaires.

Il est envisagé d'utiliser les présents composés sous forme des compositions pharmaceutiques classiques avec les types usuels de véhicules, excipients ou supports comme dans le cas des xanthines connues ou d'autres antagonistes ou
10 bloqueurs connus des récepteurs d'adénosine. On envisage également que ces compositions, par exemple des comprimés ou capsules pour administration orale ou des solutions stériles pour injections, contiennent la quantité usuelle du constituant actif, par exemple de 0,1 à 0,5 % en poids, par rapport
15 au poids de la composition bien que, comme noté, les doses seront sans doute réduites pour tenir compte de l'activité généralement plus grande des présents composés.

L'invention est illustrée, mais non limitée, par les exemples suivants :

20 Exemple 1

Synthèse de la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine (B256).

On effectue la synthèse de la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine par une variante de la méthode de
25 Pfleiderer et Kempter (Ang. Int. Ed. 6:259-260, 1967). On dissout 0,02 mole d'acide 2-nitro-4-chlorobenzoïque dans 30 ml de méthanol. On ajoute tout en agitant 0,01 mole de 1,3-dipropyl-5-nitroso-6-aminouracile puis 0,02 mole de diisopropylcarbodiimide (DICD).

30 Au bout de dix minutes, on collecte par filtration le précipité blanc, le 1,3-dipropyl-5-[[2-nitro-4-chlorobenzoyl)oxy]imino-6-(2-nitro-4-chlorobenzoyl)iminouracile. A l'intermédiaire séché, on a ajouté 15 ml de sulfure d'ammonium à 22 %. Au bout de 10 minutes, on ajoute sous une hotte HCl
35 concentré, jusqu'à obtention du pH de 8,0, et l'on collecte par filtration le précipité. Le produit obtenu est en gros un mélange 50:50 de 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)

xanthine et de 1,3-dipropyl-5-[(2-amino-4-chlorobenzoyl) amino]-6-aminouracile. Pour achever la cyclisation, on fait bouillir le produit brut durant 20 minutes dans KOH 2,5N, on neutralise et filtre. On purifie le produit une fois en 5 le dissolvant dans KOH et en le précipitant par HCl, et à nouveau par recristallisation à partir de diméthylformamide. On identifie le produit par ionisation chimique, spectrométrie de masse et par des analyses élémentaires. Le rendement est de 2,1 %.

10 Exemple 2

Synthèse de la 1,3-dipropyl-8-(2,4-diaminophényl)xanthine (B262)

On met 0,01 mole de 1,3-dipropyl-5,6-diaminouracile en suspension dans 30 ml de tétrahydrofuranne (THF). On ajoute 15 0,01 mole de l'anhydride mixte de l'acide N-trifluoroacétyl-4-nitroanthranilique et de l'acide trifluoroacétique, et l'on agite la suspension à la température ambiante durant 30 minutes puis on l'évapore dans un évaporateur rotatif à 37°C puis à 60°. On fait bouillir le solide dans 40 ml de KOH 20 2,5 N durant 5 minutes, on filtre à chaud, ajuste à pH 8,0 avec HCl concentré, filtre et lave avec H₂O. On dissout le précipité dans 20 ml de KOH 2,5N, on chauffe, on ajoute 5 ml de sulfure d'ammonium à 22 %, on fait bouillir durant 1 minute, on porte à pH 8,0 avec HCl concentré, on filtre et lave avec 25 H₂O. Rendement : 7,2 %. La spectrométrie de masse avec ionisation chimique effectuée avec NH₃ donne la crête M+1 à M/e 343. La microanalyse concorde avec le fait qu'il s'agit de 75 % du produit et de 25 % d'impuretés du type thiol. On ne purifié pas davantage le produit car les thiols semblent 30 protéger le produit voulu contre l'oxydation.

Exemple 3

Synthèse de la 8-(2-amino-4-chlorophényl)théophylline (B246)

On met 0,01 mole de 1,3-diméthyl-5,6 diaminouracile en suspension dans 50 ml de méthanol. On ajoute 0,01 mole 35 d'acide 2-amino-4-chlorobenzoïque, puis 0,1 mole de DICD. On agite à la température ambiante durant 15 minutes les corps destinés à réagir, puis on filtre et on lave avec du méthanol.

On fait bouillir le solide dans 40 ml de NaOH 2,5 N durant 5 minutes, on filtre à chaud et on laisse la liqueur filtrée refroidir durant 3 heures. On filtre sans laver la matière qui a précipité au refroidissement, on la redissout dans 40 ml d'eau et l'on précipite par neutralisation à l'aide de HCl concentré. On collecte le solide par filtration, on le lave avec H₂O et le sèche. On purifie le produit en le mettant en suspension dans 100 ml d'eau, en ajoutant NaOH jusqu'à dissolution du composé, en filtrant, en précipitant le solide par addition de HCl, en filtrant, lavant avec H₂O et séchant. On identifie le produit par spectrométrie de masse avec ionisation chimique et par analyse élémentaire. Rendement : 12,5%.

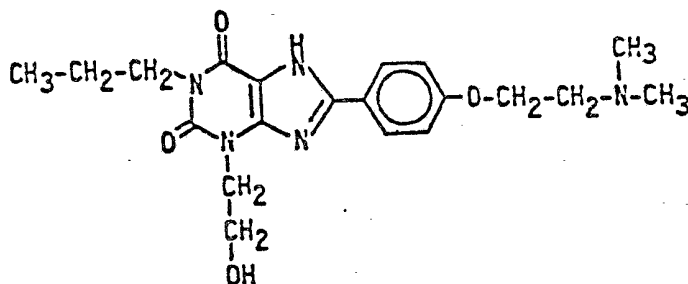
Exemple 4

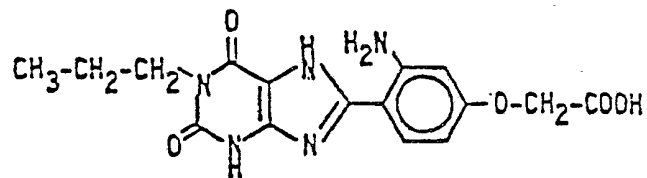
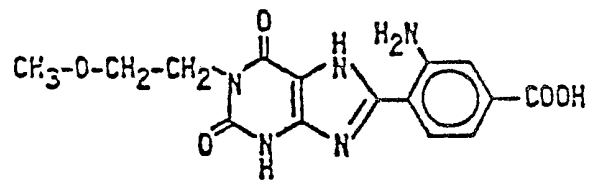
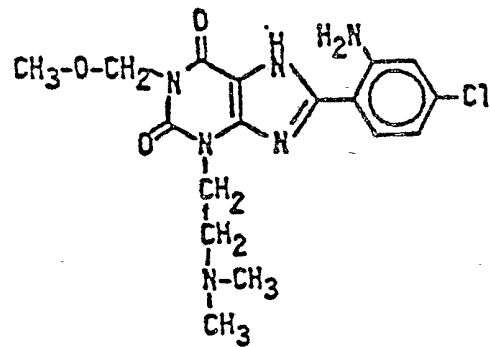
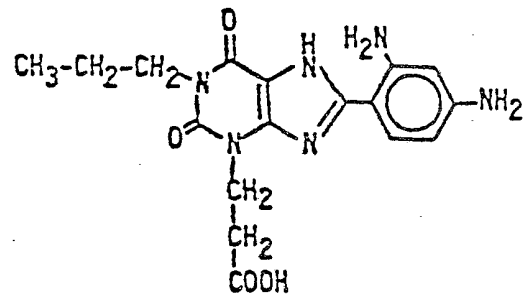
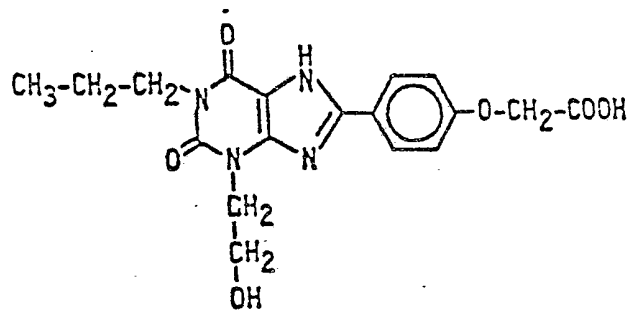
Synthèse de la 1,3-dipropyl-8-phénylxanthine (B255).

On dissout 0,01 mole de 1,3-dipropyl-5,6-diaminouracile dans 30 ml de méthanol, puis l'on ajoute 0,01 mole d'acide benzoïque puis 0,01 mole de DICD. On agite la solution durant 30 minutes à la température ambiante, on filtre et lave avec une petite quantité de méthanol. On fait bouillir durant 10 minutes le solide dans KOH 2,5N, on filtre à chaud et neutralise le liquide avec HCl concentré. On collecte par filtration le solide, on le lave à l'eau, on le redissout dans 100 ml d'eau contenant une quantité minimale de KOH, on précipite par neutralisation avec HCl, filtre, lave à l'eau et sèche. On identifie le produit par spectrométrie de masse avec ionisation chimique et par analyse élémentaire. Rendement : 77 %.

Exemple 5

Les composés suivants sont également représentatifs de l'invention et ils peuvent être préparés de façon en général semblable à celle présentée dans les exemples précédents:





Comme indiqué plus haut, on peut déterminer le pouvoir des xanthines ou d'autres composés comme inhibiteurs des récepteurs d'adénosine en soumettant les composés à l'essai précité connu de sélection et qui implique l'utilisation de [³H]CHA dans de la membrane de cerveau de bovin. On compare dans le tableau 1 ci-après les activités des composés des exemples 1 à 4 avec celles d'autres composés de structure apparentée, dont certains au moins (xanthines, B7, B80, B52, B87 et B70) sont des composés connus, en termes de valeur de CI₅₀ (concentration inhibitrice moyenne, en nM) que l'on détermine en mettant les composés au contact de [³H] cyclohexyladénosine dans le cerveau de bovin :

Tableau 1

| | | CI ₅₀ (nM) |
|----|--|-----------------------|
| 15 | xanthine | 200.000 |
| | B7 théophylline (1,3-diméthylxanthine) | 3.000 |
| | B80 1,3-dipropylxanthine | 200 |
| | B52 8-phénylthéophylline | 3 |
| | B87 8-(o-aminophényl)théophylline | 5 |
| 20 | B70 8-(p-chlorophényl)théophylline | 0,8 |
| | B211 8-(p-aminophényl)théophylline | 1,7 |
| | B232 8-(2,4-diaminophényl)théophylline | 8 |
| | B246 8-(2-amino-4-chlorophényl)théophylline | 0,15 |
| | B255 1,3-dipropyl-8-phénylxanthine | 0,3 |
| 25 | B256 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine | 0,05 |
| | B262 1,3-dipropyl-8-(2,4-diaminophényl)xanthine | 0,2 |

On notera que les composés des exemples 1 à 4 (composés B256, 262, 246 et 255, respectivement) présentent des valeurs de CI₅₀ (nM) qui sont nettement inférieures (ce qui indique un grand pouvoir de bloqueurs ou d'inhibiteurs des récepteurs d'adénosine) à celles obtenues avec les autres composés énumérés. Le composé B256 (exemple 1) est particulièrement actif, puisque son activité est supérieure d'environ 16 fois à celle du composé de l'art antérieur le plus actif (B70). On note que l'activité inhibitrice du composé de l'exemple 2 (B262) est le quadruple de celle de B70.

Si B256 est extrêmement puissant, il est hydrophobe

et très insoluble dans l'eau. Donc, dans certains cas, il peut être avantageux d'incorporer au composé, par exemple en position 3 (R_2) des groupes de solubilisation dans l'eau. Tout en étant essentiellement moins actif que B256, le composé B262 possède une bien plus grande solubilité dans l'eau et cela constitue pour lui un avantage sur B256 dans les cas où une telle solubilité est importante.

Les chiffres figurant au tableau 1 indiquent que l'on obtient les meilleurs résultats lorsque R_3 et R_4 de la formule I (c'est-à-dire, les positions en ortho et para du substituant 8-phényle) représentent chacun autre chose que de l'hydrogène, c'est-à-dire un substituant, notamment lorsque R_3 représente un groupe amino et R_4 représente un atome de chlore ou un autre halogène, R_5 représentant de l'hydrogène dans les deux cas et R_1 et R_2 représentant des groupes alkyles inférieurs. Il semble qu'en augmentant la longueur du groupe alkyle représenté par R_1 et R_2 , on améliore le pouvoir des xanthines comme inhibiteurs des récepteurs d'adénosine. On peut comparer à cet égard les résultats obtenus avec la xanthine elle-même, la théophylline (B7) et la 1,3-dipropylxanthine. Un aspect particulièrement surprenant de l'invention est que, tandis que la 8-phénylthéophylline est environ 1000 fois plus puissante que la théophylline et que les substituants 1,3-dipropyle augmentent environ 20 fois la puissance de la théophylline, la combinaison des substituants 1,3-propyle et des substituants du type 8-phényle donne un effet synergique tel que la 1,3-dipropyl-8-phénylxanthine est environ 10 000 fois plus puissante que la théophylline. Donc, on préfère actuellement que R_1 et R_2 représentent des groupes alkyles, identiques ou différents, comportant au moins trois atomes de carbone.

Tableau II

| | | CI ₅₀ (nM) |
|----|-----------------------------------|-----------------------|
| | xanthine (X) | 200.000 |
| | 3-méthylxanthine | 150.000 |
| 5 | 1-méthylX | 6.000 |
| | 1,7-diméthylX | 30.000 |
| | 8-nitroT | 3.500 |
| | caféine | 20.000 |
| | 7-(2-chloroéthyl)T | 5.000 |
| 10 | 7-(2-hydroxyéthyl)T | 100.000 |
| | 7-(2,3-dihydroxypropyl)T | 800.000 |
| | 1,3-diéthylX | 3.000 |
| | 8-(n-propyl)T | 100 |
| | 8-cyclopentylT | 2 |
| 15 | 8-(p-méthoxyphényl)T | 1,5 |
| | 8-(o-nitrophényl)T | 80 |
| | 8-(p-nitrophényl)T | 8 |
| | 8-(2,6-diméthyl-4-hydroxyphényl)T | 30 |
| | 8-(1-naphtyl)T | 80 |
| 20 | 8-(3-indolyl)T | 18 |
| | 8-(p-bromophényl)T | 0,8 |
| | 8-(p-diméthylaminophényl)T | 1,8 |
| | 8-(p-méthylphényl)T | 0,8 |
| | 8-benzylT | 1,500 |
| 25 | 8-cyclohexylT | 3 |
| | 1,3-diallylX | 4.000 |
| | 1-méthyl-8-phénylX | 2,5 |
| | 8-(3,4-dichlorophényl)T | 5 |
| | 8-(m-méthoxyphényl)T | 20 |
| 30 | 8-(m-nitrophényl)T | 50 |
| | 8-(m-diméthylaminophényl)T | 80 |
| | 8-(m-méthylphényl)T | 13 |
| | 8-(p-hydrophényl)T | 2 |
| | 8-(p-éthoxyphényl)T | 2 |
| 35 | 8-(2-pyridyl)T | 100 |
| | 8-(3-pyridyl)T | 50 |
| | 8-(4-pyridyl)T | 35 |
| | 8-(2-furyl)T | 18 |

| | CI ₅₀ (nM) |
|---------------------------------|-----------------------|
| 8-(o-carboxyphényl)T | 2.500 |
| adénine | 800.000 |
| 1-éthyl-3-propyl-7-thiaxanthine | 8.000 |
| 5 9-méthyladénine | 35.000 |
| alloxazine | 1.500 |
| 1,3-diméthylalloxazine | 25.000 |
| 8-(p-fluorophényl)T | 3,5 |
| 8-(p-iodophényl)T | 1,3 |
| 10 8-(3,4-diméthoxyphényl)T | 20 |
| 8-(p-isopropylphényl)T | 2,5 |
| 8-(2-thiényl)T | 5 |
| 8-(m-bromophényl)T | 10 |
| 8-(m-hydroxyphényl)T | 6 |
| 15 8-(m-aminophényl)T | 10 |
| 8-(p-sulfophényl)T | 500 |
| 8-(p-éthylphényl)T | 0,8 |
| 8-(p-phénylphényl)T | 3,5 |
| 8-(3,5-diméthoxyphényl)T | 500 |
| 20 8-(2-naphtyl)T | 5 |
| 8-(m-fluorophényl)T | 4 |
| 1,3-diéthyl-8-phénylX | 2,5 |
| 1,3-diéthyl-8-(p-bromophényl)X | 1,0 |
| 8-(o-fluorophényl)T | 12 |
| 25 8-(o-hydroxyphényl)T | 10 |
| 8-(o-méthoxyphényl)T | 350 |
| 8-(o-méthylphényl)T | 6 |
| 8-(m-carboxyphényl)T | 1.000 |
| 8-(p-carboxyphényl)T | 50 |
| 30 8-(2,4-diméthoxyphényl)T | 200 |
| 8-(2-amino-4-nitrophényl)T | 2,5 |
| 8-(3-furyl)T | 4 |
| 8-ferrocénylT | 20 |
| 8-(5-bromo-2-furyl)T | 50 |
| 35 8-(N-méthyl-2-pyrrolyl)T | 20 |
| 8-cyclopentylméthylT | 30 |
| 1-allyl-3-méthyl-8-phénylX | 4 |

| | CI ₅₀ (nM) |
|--|-----------------------|
| 1-allyl-3-méthyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)X | 2 |
| 8-(p-butoxyphényl)T | 4 |
| 1,3-diéthyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)X | 0,8 |
| 5 1,3-diallyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)X | 0,8 |
| 1-allyl-3-méthyl-8-(2-amino-4-méthylphényl)X | 7 |
| 8-(2-amino-4-méthylphényl)T | 10 |
| 8-(5-méthyl-2-thiényl)T | 5 |
| 8-(p-méthylthiophényl)T | 2 |

10 Comme noté, les composés les plus puissants de l'invention semblent être ceux de formule I qui comprennent les substituants propyles représentés par R₁ et R₂ en combinaison avec le substituant 8-phényle, que ce dernier soit ou non lui-même substitué. Cependant, on obtient également des com-
 15 posés puissants lorsque R₁ et/ou R₂ est ou sont autre chose qu'un groupe propyle (ou alkyle supérieur), pourvu que le groupe 8-phényle porte au moins un substituant, de préférence mais non nécessairement au moins deux substituants, et encore mieux au moins un substituant en position para.

20 Des études effectuées avec divers substituants fixés sur le noyau 8-phényle de la 8-phénylthéophylline indiquent en outre que la nature et la position de tels substituants peuvent exercer un effet marqué sur l'affinité ou l'activité de blocage exercée par le composé résultant sur les récep-
 25 teurs. En général, ces études indiquent que les substituants fixés en ortho sur le noyau 8-phényle diminuent généralement l'affinité de la 8-phénylthéophylline pour les récepteurs, probablement en raison du fait que le substituant fixé en ortho crée un effet d'empêchement stérique avec N-7 et N-
 30 9 des xanthines. La découverte que la fixation en ortho des groupes plus volumineux méthoxy et nitro, comme substituants, provoque les plus larges diminutions d'affinité concordent avec cela. Cela suggère que le récepteur préfère que le noyau 8-phényle se trouve dans le même plan que le noyau xanthine.
 35 Parmi les divers substituants pouvant être fixés en ortho, un groupe amino fixé en ortho provoqué la plus faible diminution de pouvoir de la 8-phénylthéophylline, peut-être en

raison de la liaison hydrogène avec le N-7 de la xanthine, ce qui confirme et assure que les noyaux 8-phényle et xanthine se trouvent alors dans le même plan.

Des substituants fixés en métha diminuent généralement de 3 à 100 fois le pouvoir de la 8-phénylthéophylline. Le noyau 8-phényle possède deux positions méta possibles (R^5) et le noyau tourne librement. Si une seule des positions méta est importante pour des interactions avec les récepteurs, des substituants défavorables ne réduiraient le pouvoir que d'environ 2 fois, puisque le rotamère comportant la position méta non substituée en contact avec le récepteur et comportant le substituant fixé en méta ou en la position "non importante" aurait encore une pleine affinité. Les diminutions nettement plus grandes de pouvoir que l'on observe dans le cas de présence des substituants fixés en méta suggèrent que les deux positions méta sont importantes.

Les substituants fixés en para peuvent augmenter ou diminuer le pouvoir de la 8-phénylthéophylline. Sauf dans le cas du groupe p-carboxyle, les variations de pouvoir ne sont pas grandes et sont inférieures à quatre fois dans tous les cas. Une liaison hydrogène avec le récepteur ne semble pas cruciale puisqu'un groupe amino, qui peut être à la fois un donneur et un accepteur de liaisons hydrogène, et un chloro, qui n'est ni un donneur ni un accepteur de telles liaisons, ont des effets semblables. Le développement d'une structure de résonance avec un substituant ne semble pas crucial puisqu'un groupe méthyle, qui ne donne pas une forme de résonance, augmente considérablement le pouvoir. La donation d'électrons au noyau 8-phényle ou le retrait d'électrons de ce noyau, ne semble pas important, puisque des groupes aussi bien donneurs d'électrons que des groupes retirant des électrons ont des effets semblables. Donc, il est extrêmement probable qu'une activité optimale en cette position est associée dans une large mesure à des facteurs stériques.

Si des substituants fixés en para sur le noyau 8-phényle donnent des agents très puissants, une disubstitution du noyau 8-phényle sur les positions ortho et para (R_3 et R_4)

donne clairement les composés ayant le pouvoir maximal, en particulier lorsque R_1 et R_2 représentent des alkyles à chaîne plus longue que des groupes méthyles ou éthyles. Un groupe amino en ortho ajoute du caractère hydrophile et bien
 5 que ce groupe, ajouté seul à la 8-phénylthéophylline, diminue légèrement l'affinité de fixation à $[^3\text{H}]\text{CHA}$, ce groupe augmente d'environ trois fois l'affinité lorsqu'il est ajouté à la 8-(p-chlorphényl)-théophylline. Cette interaction apparemment synergique suggère qu'un groupe (probablement le
 10 groupe o-amino) stabilise une conformation qui est favorable à la liaison de fixation de l'autre groupe.

Les résultats supplémentaires suivants montrent les affinités de diverses xanthines à l'égard des récepteurs d'adénosine en termes d'inhibition de la liaison de $[^3\text{H}]\text{CHA}$
 15 sur les récepteurs d'adénosine A_1 dans les membranes de cerveau de bovin, lorsqu'on utilise la méthode décrite plus haut dans le présent mémoire.

Tableau III

| 20 <u>Substituants</u> | Inhibition de la liaison de $[^3\text{H}]\text{CHA}$ (K_i , nM) |
|-----------------------------|--|
| Néant (xanthine) | 99.000 |
| 1-méthyle | 2.600 |
| 25 1,7-diméthyle | 7.400 |
| 1,3-diméthyl (théophylline) | 1.600 |
| 3,7-diméthyl (théobromine) | 68.000 |
| 1,3,7-Triméthyl (caféine) | 11.000 |
| 1,3-diéthyle | 1.400 |
| 30 1,3-dipropyle | 100 |
| 1,3-diméthyl-8-phényl | 1,2 |
| 1,3-diméthyl-8-phényl(DPX) | 2,0 |
| 1,3-dipropyl-8-phényl | 0,12 |

Le dernier composé du tableau III est le seul, parmi
 35 les composés figurant dans ce tableau, qui représente l'invention. Ce composé, qui correspond à la formule I dans laquelle R_1 et R_2 sont chacun un groupe propyle, X représente

NH et R₃, R₄ et R₅ sont chacun un atome d'hydrogène, est clairement bien plus puissant, comme inhibiteur, que d'autres composés.

Les résultats apparaissant au tableau IV ci-après montrent l'affinité, à l'égard des récepteurs d'adénosine, de diverses 8-phénylthéophyllines portant les substituants indiqués sur le noyau 8-phényle.

Tableau IV

Inhibition de la liaison de [³H]CHA ; K_i, nM

10 Substituant fixé sur le noyau 8-phényle en

| Substituant | ortho | méta | para |
|--------------|--------|------|------|
| H | 1,2 | 1,2 | 1,2 |
| Bromo | --- | 4,0 | 0,34 |
| 15 Méthyle | 3,6 | 5,4 | 0,51 |
| Méthoxy | 190 | 8,7 | 0,63 |
| Chloro | --- | --- | 0,64 |
| Amino | 2,3 | 5,8 | 0,69 |
| Fluoro | 6,8 | 2,4 | 1,8 |
| 20 Hydroxyle | 4,8 | 3,1 | 2,0 |
| Nitro | 49 | 22 | 4,0 |
| Carboxyle | 21.000 | 540 | 18 |

Le tableau V montre les effets d'une disubstitution sur le noyau 8-phényle de la 8-phénylthéophylline sur l'affinité à l'égard des récepteurs d'adénosine, que l'on détermine par inhibition de la fixation de [³H]CHA sur les récepteurs d'adénosine A₁ dans des membranes de cerveau de bovin.

Tableau V

| Substituants (ou H) fixés sur le noyau 8-phényle | Substituants fixés sur la xanthine | Inhibition de la liaison de [³ H]CHA (K _i , nM) |
|--|------------------------------------|--|
| H | 1,3-diméthyle | 1,2 |
| 2-amino-4-nitro | 1,3-diméthyle | 1,2 |
| 2,4-diamino | 1,3-diméthyle | 5,9 |
| 2-Amino-4-chloro | 1,3-diméthyle | 0,20 |
| 35 H | 1,3 diéthyle | 2,0 |
| 2-amino-4-chloro | 1,3-diéthyle | 0,32 |
| H | 1,3-dipropyle | 0,12 |
| 2,4-diamino | 1,3-dipropyle | 0,14 |
| 2-amino-4-chloro | 1,3-dipropyle | 0,022 |

On a utilisé les procédés suivants pour préparer divers intermédiaires ou xanthines finales auxquels on se réfère dans les exemples ci-dessus ou dans les tableaux 1 à 5 :

5 1,3-dialkyl-5-nitroso-6-aminouraciles :

On met le 6-aminouracile disubstitué en 1 et 3 en suspension (0,5M) avec agitation vigoureuse dans de l'eau avec un équivalent de nitrite de sodium. On ajoute en de petites quantités, afin de maintenir le pH à 4,0, HCl centré. Lorsque le pH s'arrête d'augmenter, on ajoute HCl jusqu'à pH 2,5 et l'on filtre le précipité épais. On sèche le produit et on l'utilise sans autre caractérisation.

1,3-dialkyl-5,6-diaminouraciles : procédé à l'hydrosulfite de sodium

15 : On prépare le 1,3-diéthyl-5,6-diaminouracile et le 3-allyle-1-éthyl-5,6-diaminouracile par réduction, à l'aide de l'hydrosulfite de sodium, des composés 5-nitroso correspondants. On met le composé nitroso en suspension dans de l'eau (1M) et l'on ajoute de l'hydrosulfite de sodium
20 jusqu'à disparition de la couleur du composé nitroso. On ajoute une quantité supplémentaire d'hydrosulfite de sodium et l'on abandonne la solution à 4°C durant la nuit. On collecte par filtration le précipité formé par le bisulfite du produit.

25 1,3-dialkyl-5,6-diaminouraciles : procédé au sulfure d'ammonium

A 0,01 mole de 1,3-dipropyl-5-nitroso-6-aminouracile ou de 1,3-diallyle-5-nitroso-6-aminouracile, on ajoute, sous une hotte destinée à recueillir les fumées, 10 ml de
30 sulfure d'ammonium à 22 %. Au bout de 2 minutes environ, la suspension devient chaude et, dans certains cas, elle peut même bouillir violemment. Après 30 minutes, on enlève le sulfure d'ammonium dans un évaporateur rotatif. Le solide restant présente une intense mauvaise odeur de sulfure mais
35 donne une réaction satisfaisante de couplage avec l'acide benzoïque.

1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :Procédé A : fusion avec l'acide carboxylique.

On chauffe le 1,3-diméthyl-5,6-diaminouracile et l'acide carboxylique approprié au-dessus de leur point de fusion à l'épreuve du mélange (120°C-180°C) jusqu'à formation d'un solide ou jusqu'à écoulement de 3 heures, selon ce qui se présente en premier.

1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :Procédé B : fusion avec le chlorure d'acyle

On met le 1,3-diméthyl-5,6-diaminouracile en suspension dans un excès du chlorure d'acide approprié et l'on chauffe jusqu'à 120-160°C durant 30 minutes à 2 heures.

1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :Procédé C : [EDAC 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide] dans de l'eau

On dissout dans de l'eau bouillante du 1,3-diméthyl-5,6-diaminouracile pour obtenir une solution à 0,3 M qu'on laisse ensuite refroidir au-dessous de 40°C. On ajoute un équivalent de l'acide carboxylique approprié et l'on élève lentement le pH par addition de NaOH jusqu'à dissolution de l'acide carboxylique (pH 4 à 7). On ajoute tout en agitant un équivalent de EDAC et l'on maintient le pH constant par addition de HCl. Lorsque le pH s'arrête de s'élever, on collecte par filtration l'amide précipité. Dans le cas du 1,3-diméthyl-5-(p-sulfobenzoylamino)-6-aminouracile, on précipite le produit par addition de méthanol (MeOH).

1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :Procédé D : DICD dans du méthanol

On dissout ou met en suspension, à raison de 0,3M chaque, le 1,3-dialkyl-5,6-diaminouracile (base libre ou sel obtenu avec le bisulfite) et l'acide carboxylique approprié dans MeOH. On ajoute un équivalent de DICD (di-isopropylcarbodiimide) et, après 5 à 30 minutes, on collecte par filtration le copieux précipité d'amide. Dans un petit nombre de cas (par exemple le 1,3-diéthyl-5,6-diaminouracile avec l'acide 2-amino-4-chlorobenzoïque), l'amide est soluble dans MeOH et doit être collecté par précipitation par addition d'eau, ou bien par évaporation du méthanol (MeOH).

1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :

Procédé E : EDAC dans du méthanol.

Ce procédé est le même que le procédé D, sauf qu'on utilise EDAC à la place de DICD.

5 1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouraciles :

Procédé F : anhydride mixte

A de l'acide 2-amino-4-nitrobenzoïque dans un petit volume de tétrahydrofur (THF), on ajoute 2 équivalents d'anhydride trifluoroacétique. Au bout de 10 minutes, on enlève dans un évaporateur rotatif l'acide trifluoroacétique et son anhydride. On fait réagir 0,01 mole de l'anhydride mixte de l'acide 2-trifluoroacétamido-4-nitrobenzoïque et de l'acide trifluoroacétique ainsi produit avec 0,01 mole de 1,3-dialkyl-5,6-diaminouracile dans THF durant 60 minutes. Dans le cas du dérivé 1,3-diméthylé, le 1,3-diméthyl-5-(2-trifluoroacétamido-4-nitrobenzamido)-6-aminouracile produit précipite dans 140 ml de THF et on le recueille par filtration. L'homologue 1,3-dipropylique est soluble dans 30 ml de THF et on le recueille dans un évaporateur rotatif. Lorsque l'on produit les xanthines correspondantes par cyclisation dans KOH 2,5 N (voir ci-après), le groupe trifluoroacétyle est perdu.

Xanthines substituées en position 8 : cyclisation dans NaOH

On fait bouillir durant 5 à 20 minutes le 1,3-dialkyl-5-acylamino-6-aminouracile (0,3M) dans NaOH (ou KOH) 2,5N. Les uraciles insolubles ou qui comportent, sur le fragment acyle, des groupes donneurs d'électrons, exigent les temps les plus longs.

Isolement des xanthines substituées en position 8

30 Quand cela est possible, on filtre la xanthine dans NaOH bouillant pour enlever des impuretés qui sont insolubles dans NaOH bouillant. Les xanthines qui ont été synthétisées par le procédé A contiennent habituellement une matière, insoluble dans les substances alcalines, et dont le poids moléculaire est de 252. On omet cette étape lorsque la xanthine est insoluble dans NaOH bouillant ou lorsqu'il y a précipitation en cours de filtration. On refroidit jusqu'à

0° la solution de xanthine dans NaOH. Si la xanthine précipite sous forme du sel de sodium, on le collecte par filtration sans lavage, on le redissout dans de l'eau distillée, on précipite par neutralisation (pH 7 à 9) avec HCl concentré, on filtre et lave à l'eau. Si la xanthine reste dissoute à 0° dans NaOH 2,5N, on la neutralise, filtre et lave. On omet le lavage final dans le cas de la 8-(p-sulfophényl) théophylline, qui précipite sous forme du sel de sodium. Pour les 8-(carboxyphényl) théophyllines, on ajoute HCl jusqu'à pH 6 dans l'étape de précipitation.

8-(o-hydroxyphényl) théophylline : cyclisation dans POCl₂.

Il n'a pas été possible de préparer la 8-(o-hydroxyphényl)théophylline par la cyclisation usuelle dans NaOH, même en utilisant comme intermédiaire le 1,3-diméthyl-5-(acétylsalicyloyl)amino-6-aminouracile. Donc, on chauffe au reflux durant 10 minutes le 1,3-diméthyl-5-(acétylsalicyloyl)amino-6-aminouracile dans POCl₂. On ajoute lentement, avec agitation vigoureuse, la solution dans POCl₂, refroidie, à un grand volume d'eau glacée. Après hydrolyse complète du POCl₂, on neutralise la solution par des pastilles de KOH et l'on filtre. Le filtrat est un mélange de la xanthine et de l'amide non cyclisé. On élimine ce dernier par 5 minutes d'ébullition dans KOH 2,5 N, et l'on collecte la xanthine par neutralisation et filtration.

25 1,3-dipropyl-8-(2,4-diaminophényl)xanthine : réduction du dérivé nitro :

Procédé G.

On dissout 0,007 mole de 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-nitrophényl)xanthine dans 20 ml de KOH 2,5 N bouillant. On ajoute 5 ml de sulfure d'ammonium à 22 %, et l'on retire la solution de la chaleur. Au bout d'une minute, on ajoute dans une hotte HCl jusqu'à pH 8, on collecte par filtration le produit et on le lave à l'eau. Environ 25 % du produit sont constitués par une impureté contenant du soufre. Puisque cette impureté semble protéger la xanthine de l'oxydation, on n'a pas essayé de purifier davantage cette xanthine. On effectue de la même façon la synthèse de la 8-(2,4-diamino-

phényl)-théophylline.

1,3-dialkyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine :

Procédé H à partir de nitrosouracile acylé.

On effectue, par la méthode de Pfleiderer et Kem-
 5 ter, la synthèse de la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)
 xanthine et de la 1,3-diallyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)
 xanthine. On dissout 0,02 mole d'acide 2-nitro-4-chloroben-
 zoïque dans 30 ml de MeOH. On ajoute tout en agitant 0,1 mole
 de 1,3-dialkyl-5-nitroso-6-aminouracile puis 0,02 mole de
 10 DICD. Au bout de 10 minutes, on collecte par filtration le
 précipité blanc de 1,3-dialkyl-5-[(2-nitro-4-chlorobenzoyl)
 oxy]imino-6-(2-nitro-4-chlorobenzoyl)iminouracile. A l'inter-
 médiaire séché, on ajoute 15 ml de sulfure d'ammonium à 22 % .
 Au bout de 10 minutes, on ajoute sous une hotte, jusqu'à pH 8,
 15 HCl concentré et l'on collecte par filtration le précipité
 obtenu. Le produit est grossièrement un mélange 50:50 de 1,3-
 dialkyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine et de 1,3-dialkyl-
 5-[(2-amino-4-chlorobenzoyl)amino]-6-aminouracile. Afin
 d'achever la cyclisation, on fait bouillir durant 20 minutes
 20 le produit brut dans KOH 2,5 N, on neutralise et filtre.

Purification du produit

Lorsqu'une micro-analyse de xanthine ne donne pas
 des résultats correspondants aux valeurs théoriques, on met
 la xanthine en suspension, à 0,1M dans de l'eau et l'on
 25 dissout par addition minimale de KOH. Après filtration, on
 neutralise la xanthine, on collecte par filtration et lave
 à l'eau. Si la micro-analyse est encore incorrecte, on fait
 recristalliser le composé à partir de diméthylformamide.

Caractérisation des produits

30 Tous les produits ont donné des ions apparentés
 corrects (M+1) par spectrométrie d'ionisation chimique de
 NH₃. Sauf pour les carboxyphénylthéophyllines, on n'a pas
 observé les crêtes M+18. Cela a permis une détection facile
 de l'amide non cyclisé M+19. La structure de la 8-p-sulfo-
 35 phénylthéophylline a été confirmée par résonance magnétique
 de protons dans DMSO deutériés. On a séché les composés avant
 d'en effectuer une analyse élémentaire. On a purifié la plu-

part des composés jusqu'à obtention de résultats satisfaisants dans les micro-analyses, mais il a fallu utiliser un petit nombre des composés sans les purifier, en raison de la faible quantité de matière disponible.

5 Solubilité des 8-phénylxanthines

Les 8-phénylxanthines non chargées sont toutes très insolubles dans l'eau. La 8-phénylthéophylline elle-même est soluble à raison de 10 μM dans l'eau, et la 1,3-diéthyl-8-phénylxanthine est soluble à raison de 3 μM . Les analogues plus hydrophobes semblent être considérablement moins solubles dans l'eau. La 8-phénylthéophylline est soluble à raison de 1 mM dans DMF et dans NaOH 0,01N, mais quasi insoluble dans l'éthanol. Des analogues plus hydrophobes sont moins solubles dans NaOH mais plus solubles dans DMF. 10
15 Contrairement à la plupart des 8-phénylxanthines, la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-4-chlorophényl)xanthine est soluble à raison de 1 mM dans de l'éthanol. Elle est soluble à 30 mM dans DMF et à 1mM dans KOH 0,1N chaud.

On prépare des solutions de réserve des 8-phényl-
20 xanthines dans KOH 0,01N ou dans DMF, et on les conserve à 4°C pendant leurs essais. Les solutions dans KOH sont stables durant trois semaines environ et les solutions dans DMF sont stables plus longtemps. Les solutions dans KOH précipitent parfois de manière irréversible si on les con-
25 gèle. On peut effectuer des dilutions à nouveau à partir d'une solution de réserve. On dilue directement les solutions jusqu'à 1 μM ou 10 μM dans de l'eau distillée et, si possible, on dilue encore davantage immédiatement.

On peut indiquer en somme que les composés de for-
30 mule I, notamment ceux dans lesquels X représente NH, R₁ et R₂ représentent des groupes alkyles inférieurs comportant au moins trois atomes de carbone chacun, R₃ représente NH₂, R₄ est un halogène, notamment le chlore, et R₅ représente de l'hydrogène, sont des antagonistes extrêmement puissants
35 des récepteurs d'adénosine et ces composés vont donc être utiles, par exemple, à titre de bronchodilatateurs, de cardiotoniques, de diurétiques et de stimulants du système

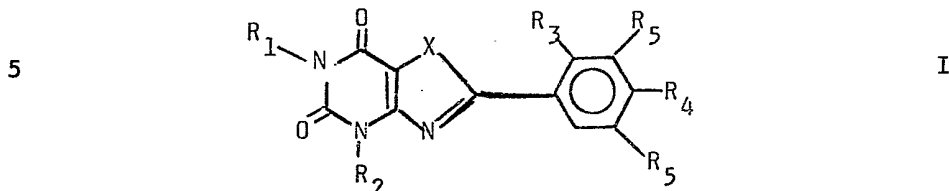
nerveux central. En outre, lorsqu'ils sont marqués par du tritium, de l'iode 125 ou quelque autre marqueur radioactif, les présents composés peuvent servir de radioligands pour se fixer sur les récepteurs d'adénosine. Un tel radioligand
5 peut servir à mesurer les taux des récepteurs d'adénosine ou à mesurer les taux d'adénosine ou d'analogues de l'adénosine. De telles mesures sont utiles comme outil de recherche et pour effectuer des essais en vue d'un diagnostic.

On pense également qu'au moins certains des pré-
10 sents composés vont être de puissants inhibiteurs de la GMP phosphodiesterase cyclique (GMP = guanosine monophosphate).

Il va de soi que l'invention n'a été décrite qu'à titre illustratif et non limitatif et qu'elle est susceptible de diverses variantes entrant dans son cadre et dans son
15 esprit.

REVENDICATIONS

1. 8-phénylxanthine, caractérisée en ce qu'elle répond à la formule :



dans laquelle

10 (a) X représente NH, O ou S ;

R_1 représente un groupe alkyle, alkyle inférieur ou cycloalkyle, le groupe alkyle inférieur ou cycloalkyle étant éventuellement substitué par un groupe hydroxyle, alcoxy inférieur ou cyano ;

15 R_2 représente de l'hydrogène, un groupe alkyle, alkyle inférieur ou cycloalkyle, le groupe alkyle inférieur ou cycloalkyle étant éventuellement substitué par un groupe hydroxyle, méthoxy, amino, méthylamino, diméthylamino, carboxyle, (carboxylate de méthyle), (carboxylate d'éthyle), carboxamide, diméthyl carboxamide, uréido, cyano ou glycosyle ;

20

R_3 représente NH_2 ou OH ;

R_4 représente un halogène ou un groupe halogéno-alkyle inférieur, phényle, amino, hydroxyle, carboxyle, alkyle inférieur cycloalkyle, alcoxy inférieur, cycloalcoxy, alcoxy (inférieur)-amino, alkylamino inférieur ou cycloalkylamino, le groupe alcoxy inférieur, alkyle inférieur ou cycloalkyle pouvant dans chaque cas être éventuellement substitué par un groupe hydroxyle, amino primaire, amino secondaire, amino tertiaire ou carboxyle, étant bien entendu que R_3 et R_4 ne représentent pas tous deux chacun un groupe amino lorsque R_1 et R_2 représentent chacun un groupe méthyle ; et

25

30

les symboles R_5 , identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle inférieur, alcoxy inférieur, un atome d'halogène ou un groupe hydroxyle, nitro ou amino ; ou bien

35

- (b) X, R₁, R₂ et R₅ ont les sens indiqués en (a) ;
R₃ représente un atome d'hydrogène ; et
R₄ représente un atome d'hydrogène ou a le sens indiqué
en (a), sauf que R₁ représente autre chose qu'un groupe
5 méthyle ou éthyle lorsque R₄ est un atome d'hydrogène
ou d'halogène ou un groupe alcoxy ayant 1 à 3 atomes de
carbone, amino ou alkylamino et que R₅ est un atome
d'hydrogène ou d'halogène , ou en ce qu'il s'agit d'un
sel, ester, amide, glucoside ou complexe de formaldéhyde
10 pharmaceutiquement acceptables.
2. 8-phénylxanthine selon la revendication 1,
caractérisée en ce que X représente NH, R₁ et R₂ représentent
des groupes alkyles ayant au moins 3 atomes de carbone, R₃
représente un groupe amino, R₄ est un atome d'halogène et
15 chaque R₅ est un atome d'hydrogène.
3. 8-phénylxanthine selon la revendication 1,
caractérisée en ce que R₁ et R₂ représentent des groupes
alkyles ayant chacun au moins 3 atomes de carbone.
4. 8-phénylxanthine selon la revendication 3,
20 caractérisée en ce que R₁ et R₂ sont chacun un groupe propyle.
5. 8-phénylxanthine selon la revendication 4,
caractérisée en ce que R₃ et R₅ sont chacun un atome d'hydro-
gène et X représente NH.
6. 8-phénylxanthine selon la revendication 1,
25 caractérisé en ce qu'elle est la 1,3-dipropyl-8-(2-amino-
4-chlorophényl)xanthine.
7. Composition destinée à bloquer les récepteurs
d'adénosine, caractérisée en ce qu'elle comporte comme subs-
tance active un composé selon la revendication 1.
- 30 8. Composition selon la revendication 7, caractéri-
sée en ce que la substance active est la 1,3-dipropyl-8-(2-
amino-4-chlorophényl)xanthine.