

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
 INSTITUT NATIONAL
 DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
 PARIS

11 N° de publication : **2 597 865**
 (à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)
 21 N° d'enregistrement national : **86 06179**
 51 Int Cl⁴ : C 07 D 213/75, 401/04; A 61 K 31/44 // (C 07 D 401/04, 213:75, 207:40).

12 **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

22 Date de dépôt : 29 avril 1986.

30 Priorité :

43 Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 44 du 30 octobre 1987.

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

71 Demandeur(s) : *ROUSSEL-UCLAF, société anonyme.* — FR.

72 Inventeur(s) : Françoise Delevallée, Jean-Paul Vevert et Jean-Claude Gasc.

73 Titulaire(s) :

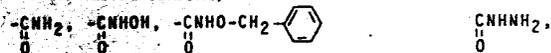
74 Mandataire(s) : Jean-Claude Vieillefosse, Roussel-Uclaf.

54 Nouveaux dérivés d'un acide benzyl alkyl carboxylique substitué par un radical 4-pyridinyl aminocarbonyle, leur procédé de préparation, les nouveaux intermédiaires obtenus, leur application à titre de médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

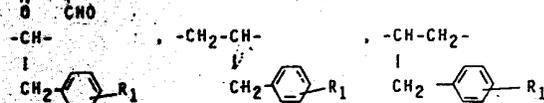
57 L'invention concerne les composés de formule (I) :



dans laquelle X représente l'un des groupements suivants :
 —COOH, —COOR, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone,



—CH—NH—, Y représente l'un des groupements suivants :



R₁ étant un atome d'hydrogène, un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un radical trifluorométhyl ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases. L'invention a aussi pour objet les procédés de préparation des composés (I) et les nouveaux intermédiaires ainsi obtenus, leur application à titre de médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

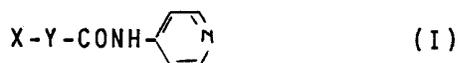
FR 2 597 865 - A1

2597865

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de l'acide benzylalkylcarboxylique substitué par un radical (4-pyridinylamino-carbonyle, leur procédé de préparation, les nouveaux intermédiaires obtenus, leur application à titre de médicaments et les 5 compositions pharmaceutiques.

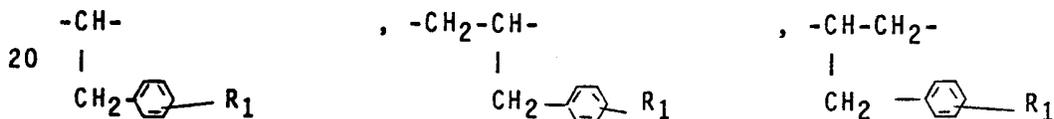
L'invention a pour objet les composés de formule (I) :

10



dans laquelle X représente l'un des groupements suivants : -COOH, -COOR, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de 15 carbone, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NH}_2$, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NHOH}$, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NHO}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NHNH}_2$,

$-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{NH}-\overset{\text{H}}{\text{N}}-\overset{\text{H}}{\text{C}}\text{HO}$, Y représente l'un des groupements suivants :



R₁ étant un atome d'hydrogène un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un 25 radical trifluorométhyle ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases.

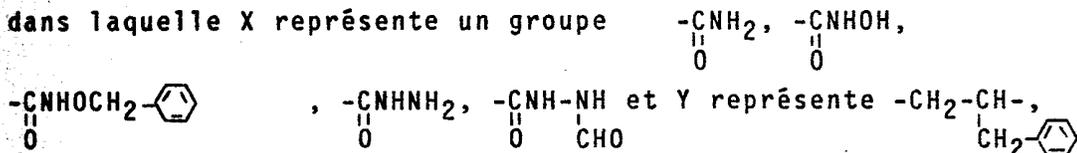
Lorsque X représente un groupement -COOR, R est de préférence un radical méthyle, éthyle, isopropyle, n-propyle, n-butyle, iso-butyle, tert butyle, R₁ est de préférence un atome d'hydrogène 30 ou un radical méthyle ou éthyle, un radical méthoxy ou éthoxy, un atome de chlore, un radical hydroxy ou trifluorométhyle.

Parmi les sels d'addition avec les acides, on peut citer ceux formés avec les acides minéraux tels que les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique ou phosphorique ainsi que ceux formés avec les acides sulfoniques tels que les acides alcoyles ou 35 arylsulfoniques par exemple, l'acide méthanesulfonique ou paratoluènesulfonique.

Parmi les sels d'addition avec les bases, on peut citer ceux formés avec les métaux alcalins comme le sodium et le potassium et 40 les amines, par exemple, la triméthylamine ou la diméthylamine.

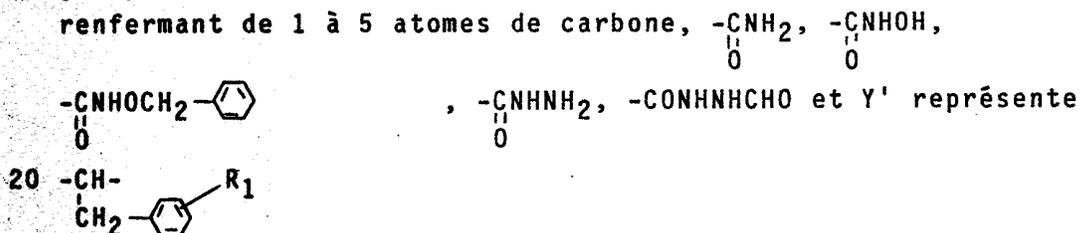
Les produits préférés sont les produits dans lesquels R_1 représente un atome d'hydrogène.

L'invention concerne notamment les composés de formule (I) dans laquelle X représente un groupe

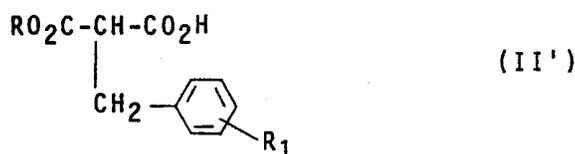


ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases et tout particulièrement le N'-hydroxy 2-(phénylméthyl) N-(4-pyridinyl) 1,4-butane diamide et son chlorhydrate.

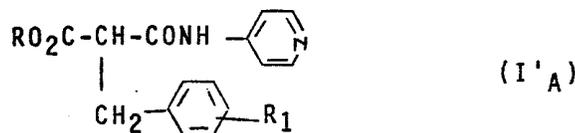
L'invention concerne aussi un procédé de préparation des produits de formule (I') dans laquelle X représente l'un des groupes suivants : -COOH, -COOR, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, -CNH₂, -CNHOH,



R_1 étant un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un radical trifluorométhyle, caractérisé en ce que l'on soumet le produit de formule (II') :

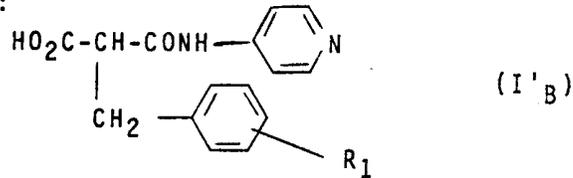


dans laquelle R est un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone et R_1 a la signification indiquée précédemment, à un agent de chloruration et en ce que l'on condense le chlorure de l'acide de formule II' ainsi obtenu avec la 4-aminopyridine pour obtenir le produit de formule (I_A) :



que l'on saponifie, le cas échéant, pour obtenir le produit de

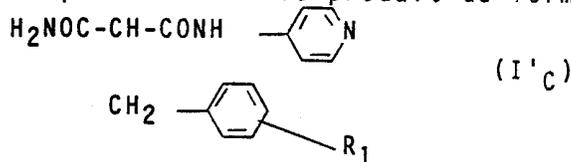
formule (I'B) :



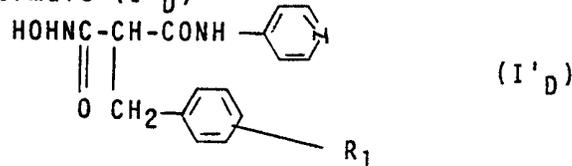
5

ou soumet, le cas échéant, la fonction carboxyle de ce produit (I'B) soit à une chloruration pour obtenir le chlorure de l'acide alpha-[(4 pyridinylamino) carbonyl] benzène propanoïque que l'on traite :

10 - avec l'ammoniac pour obtenir le produit de formule (I'C)



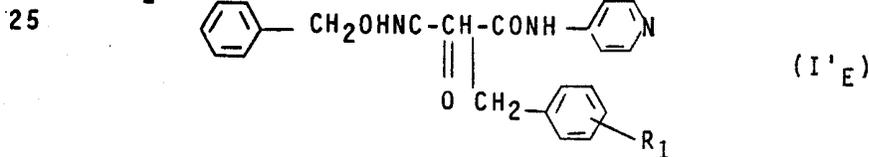
15 - ou bien avec la bis triméthylsilylhydroxylamine, pour obtenir le produit de formule (I'D)



20

soit à une activation et traite le produit de formule (I'B) ainsi activé :

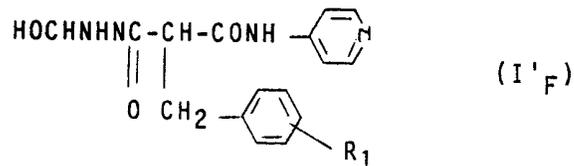
- avec la benzylhydroxylamine pour obtenir le produit de formule (I'E) :



25

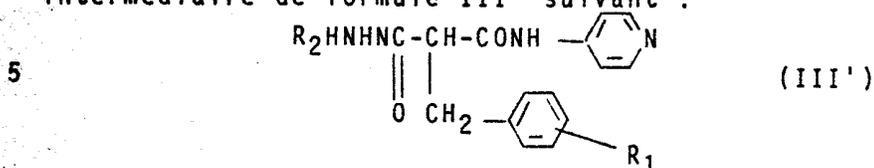
30 que l'on soumet, le cas échéant, à une hydrogénation catalytique pour obtenir le produit de formule (I'D) telle que décrite ci-dessus

35 - ou bien à la formylhydrazine pour obtenir un produit de formule (I'F) :

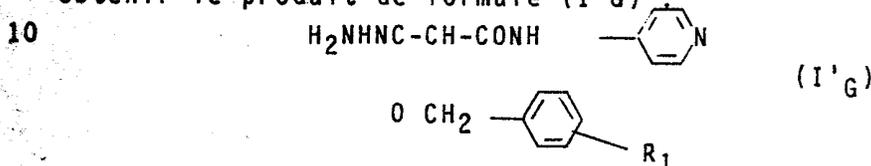


40

ou bien avec un produit de formule $R_2\text{-NHNH}_2$, R_2 étant un groupement bloqueur de l'hydrazine, pour obtenir le produit intermédiaire de formule III' suivant :

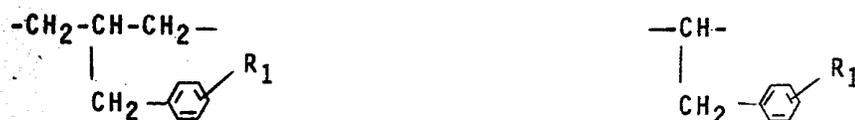


produit intermédiaire dont on élimine le groupement bloqueur, pour obtenir le produit de formule (I'G) :



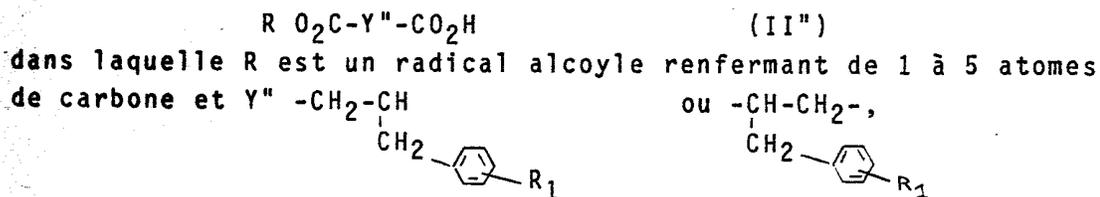
produit intermédiaire (I'G) que l'on soumet éventuellement à l'action du mélange acide formique-anhydride acétique pour obtenir le produit de formule (I'F) telle que décrite ci-dessus : produits de formule (I') que l'on soumet éventuellement à l'action d'un acide ou d'une base pour en former le sel correspondant.

L'invention a aussi pour objet un procédé de préparation des produits de formule (I'') dans laquelle X représente l'un des groupes suivants : $-\text{COOH}$, $-\text{COOR}$, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, $-\text{CNH}_2$, $-\text{CNHOH}$



R_1 étant un atome d'hydrogène, un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un radical trifluorométhyle caractérisé en ce que l'on soumet un produit de formule (II'') :

40



R₁ ayant la signification précédente à un agent de chloruration et en ce que l'on condense le chlorure de l'acide de formule IV ainsi obtenu avec la 4-aminopyridine pour obtenir un mélange des 2

5 produits de formule (I^{"A})



R et Y'' ayant la signification précédente, produits de formule (I^{"A}) que l'on sépare puis que l'on saponifie, le cas échéant, pour obtenir les 2 produits de formule (I^{"B}) :



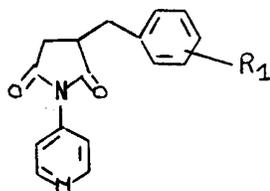
Y'' ayant la signification donnée précédemment, produits de formule (I^{"B}) dont on active, le cas échéant, la fonction acide et que l'on traite ensuite :

15 soit avec l'ammoniac pour obtenir un mélange des 2 produits de formule (I^{"C}) suivants :



Y'' ayant la signification donnée précédemment ainsi que le produit de cyclisation de formule V suivant :

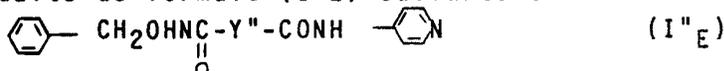
20



25

R₁ ayant les valeurs précédemment indiquées, produits de formule (I^{"C}) que l'on isole du mélange,

30 soit à la benzylhydroxylamine pour obtenir un mélange renfermant les 2 produits de formule (I^{"E}) suivants :



35 et du produit de cyclisation de formule (V) précédemment décrit, produits de formule (I^{"E}) que l'on isole du mélange et que l'on soumet, le cas échéant, à une hydrogénation catalytique pour obtenir les produits de formule (I^{"D}) :



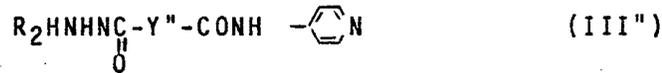
40 Y'' ayant la signification donnée précédemment.

soit avec la formylhydrazine pour obtenir un mélange renfermant les 2 produits de formule (I^{"F}) suivants :



Y" ayant la signification donné précédemment et du produit de cyclisation de formule (V) précédemment décrit, produits de formule (I" F) que l'on isole du mélange, soit avec un produit de formule R₂NHNH₂, R₂ étant un

5 groupement bloqueur de l'hydrazine, pour obtenir les produits intermédiaires suivants :



Y" ayant la signification donnée précédemment, sous forme de

10 mélange de produits (III'') ; ces mélanges comportant aussi le produit de cyclisation de formule (V,) produits intermédiaires que l'on isole du mélange obtenu et dont on élimine le groupement bloqueur pour obtenir les produits de formule (I" G) :



15 Y" ayant la signification donnée précédemment que l'on soumet, le cas échéant, à l'action du mélange anhydride acétique-acide formique, pour le produit de formule (I" F) telle que décrite ci-dessus :

20 produits de formule (I'') que l'on soumet, le cas échéant, à l'action d'un acide ou d'une base pour en former le sel correspondant.

Dans les conditions préférentielles de mise en oeuvre du procédé, objet de l'invention :

25 - dans les produits de départ de formule (II') ou (II''), R est un radical éthyle.

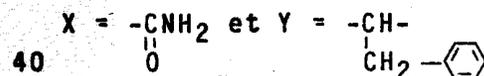
- Les agents de chloruration des acides de formule (II'), (II'') ou (I' G) sont usuels : chlorure de thionyle phosgène, chlorure d'oxalyle.

30 - La condensation du chlorure de l'acide de formule (II') ou du chlorure de l'acide de formule (II'') s'effectue dans le tétrahydrofurane entre -10 et -20°C.

- L'activation des fonctions acides s'effectue par action du

35 utiliser aussi l'hydroxybenzotriazole en présence de dicyclohexyl carbodiimide.

- Pour obtenir le produit de formule (I' C) dans laquelle



On fait, par exemple, agir à -20°C l'ammoniac sur le chlorure de l'acide alpha-[4-pyridinylaminocarboxyl] benzène propanoïque dans l'éther.

- L'action de la triméthylsilyldroxyamine s'effectue en
5 présence d'une base tertiaire telle que la triéthylamine.

- Dans les produits de formule (III') et (III"), le groupement bloqueur R_2 de l'hydrazine est un groupement benzyloxycarbonyle (=Z) ou terbutyloxycarbonyle (=Boc). L'élimination du groupement bloqueur Z de la fonction amino s'effectue notamment par
10 hydrogénation catalytique avec le palladium sur charbon actif. Le groupement bloqueur Boc s'élimine en milieu acide, notamment par l'acide trifluoroacétique dans un solvant tel que l'acétate d'éthyle ou le chlorure de méthylène.

- Les produits de formule, (I^A), (I^C), (I^E), (I^F),
15 (III") obtenus sous forme de mélange sont séparés par chromatographie sur silice. Les composés de formule (I) tels que définis ci-dessus présentent d'intéressantes propriétés pharmacologiques. Ils présentent, en particulier, de très intéressantes propriétés inhibitrices de l'enképhalinase et de l'aminopeptidase sensibles à
20 la bestatine, enzymes de dégradation des enképhalines. Ils sont, de ce fait, doués de propriétés analgésiques et psychotropes.

L'enképhalinase est une dipeptidylcarboxypeptidase qui hydrolyse spécifiquement la méthionine et la leucine enképhaline
25 entre le 3ème et le 4ème acide aminé, libérant ainsi un tripeptide Tyr-Gly-Gly (Swerts J.P., Perdrisot R., Patey G., De la Baume S. and Schwartz J.C. Europ. J. Pharmacol., 1979, 57, 279).

L'aminopeptidase sensible à la bestatine libère la tyrosine du peptide.

30 L'enképhalinase et l'aminopeptidase participent à la dégradation physiologique des enképhalines, ligands naturels endogènes des récepteurs opiacés. Les composés de l'invention, qui retardent la dégradation des enképhalines, stimulent donc les réactions de défense de l'organisme contre la douleur.

35 Ces propriétés justifient leur application en thérapeutique et l'invention a également pour objet, à titre de médicaments, les composés de formule (I) tels que définie ci-dessus. L'invention a plus particulièrement pour objet, à titre de médicaments, les composés de formule (I) dans laquelle X représente un groupe :

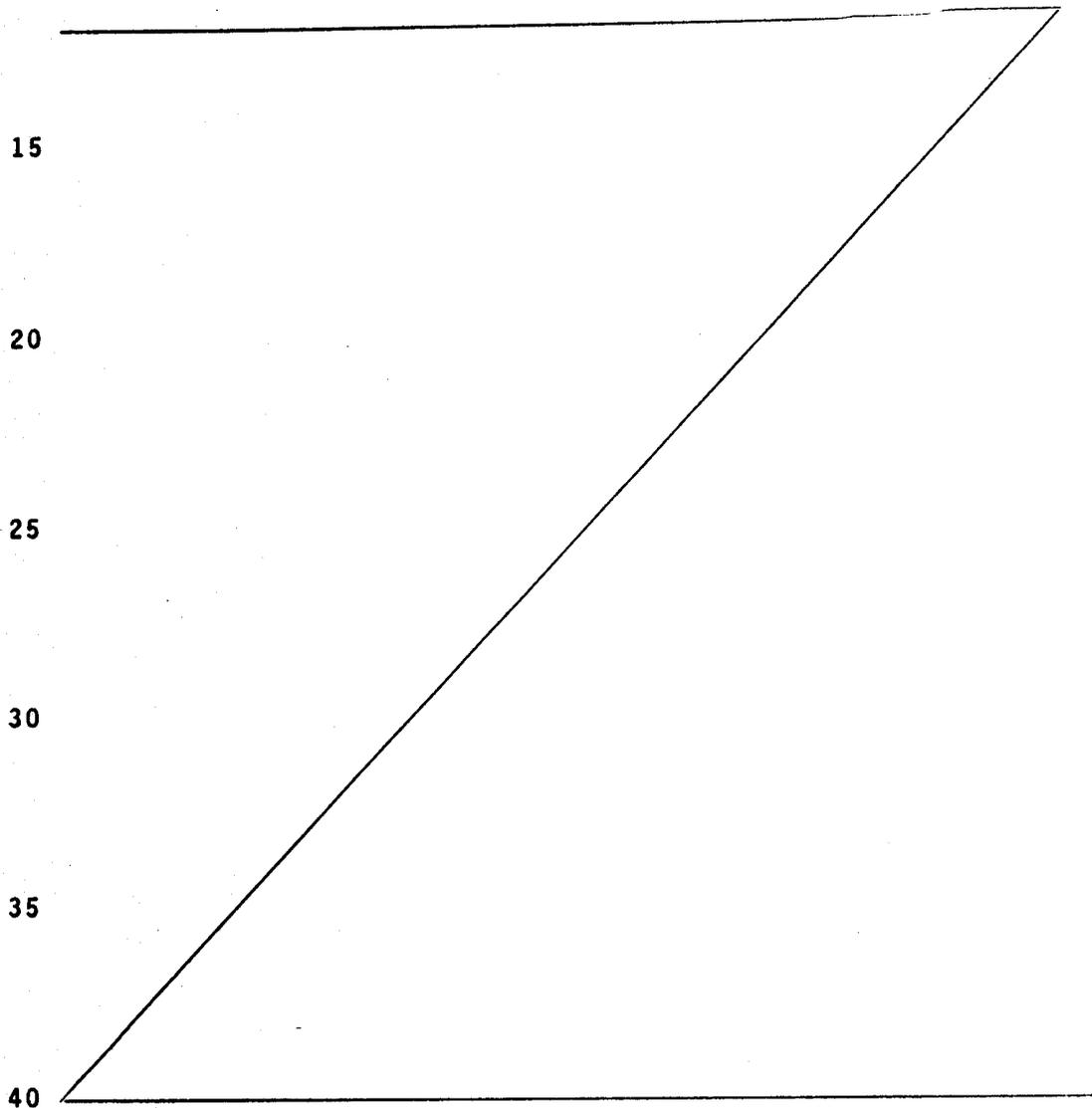


et le chlorure de l'acide alpha-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène propanoïque, à titre de produits industriels nouveaux et notamment de produits intermédiaires nécessaires à la mise en oeuvre des procédés de l'invention.

5 L'invention concerne aussi, à titre de produit chimique nouveau, le produit de formule (V).

Les composés de formule (II") utilisés comme produits de départ d'un des procédés de l'invention sont préparés comme indiqué dans Journal of the American Chemical Society /90 :

10 13/ June 19, 1963.



Les exemples donnés ci-dessous illustrent l'invention sans toutefois la limiter

Exemple 1 : alpha-[(4-pyridinyl) amino carbonyl] benzène propanoate d'éthyle.

- 5 On chauffe à 70°C pendant 1 h 30 22,3 g de 2-phénylméthyl propanedioate de monoéthyle dans 100 ml de chlorure de thionyle. On observe un important dégagement d'acide chlorhydrique gazeux, puis refroidit la solution à température ambiante, évapore le solvant sous pression réduite, reprend le résidu par 2 fois 100 ml
10 de benzène et élimine les solvants à nouveau sous pression réduite. On reprend le chlorure d'acide ainsi obtenu par 100 ml de chlorure de méthylène et l'ajoute goutte à goutte à -10°C à une solution renfermant 18,8 g de 4-amino pyridine dans 150 ml de chlorure de méthylène et en présence de 13,9 ml de triéthylamine.
15 On laisse revenir à température ambiante et maintient sous agitation pendant 12 heures. On filtre la suspension ainsi obtenue, lave le filtrat à l'acide chlorhydrique 0,05 N et à l'eau, sèche et évapore le solvant sous pression réduite. Le composé désiré est purifié par chromatographie sur silice sous une
20 pression de 8 bars avec l'éluat suivant : chlorure de méthylène - méthanol (98-2). On obtient 21 g de produit attendu F = 110°C.

Exemple 2 : chlorhydrate de l'acide alpha-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzoïque.

- On ajoute goutte à goutte à 0°C 8 ml de soude 1N en solution
25 dans 30 ml d'éthanol dans 2 g de composé de l'exemple 1 dans 20 ml d'éthanol. On réchauffe le mélange à température ambiante, poursuit la réaction pendant 12 heures, puis évapore le solvant sous pression réduite. On reprend le résidu par 50 ml d'eau, lave au chlorure de méthylène, acidifie la phase aqueuse à pH = 6. On
30 récupère le précipité obtenu par filtration, le lave à l'éther éthylique et le sèche. On obtient 1,85 g de produit attendu sous forme de base que l'on dissout dans 18,5 ml d'acide chlorhydrique N. On obtient le chlorhydrate attendu après lyophilisation
F = 196°C.

35 Exemple 3 : hydrazide de l'acide alpha-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène propanoïque.

Stade A : Hydrazide de l'acide alpha-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène propanoïque.

- On ajoute goutte à goutte à température ambiante 1,235 ml
40 de triéthylamine dans 2 g de composé de l'exemple 2 en suspension dans 50 ml de chloroforme. On ajoute ensuite 1,70 g

de 1-éthyl-3(3-diméthylamino-propyl) carbodiimide (EDAC) par petites portions. La solution obtenue est agitée pendant 15 minutes puis on ajoute 1,5 g de benzyloxycarbonyl hydrazine en solution dans 10 ml de chloroforme.

5 On poursuit la réaction pendant 12 heures à température ambiante et lave la solution obtenue à l'acide chlorhydrique 0,05N et à l'eau.

On sèche la phase organique, élimine les solvants sous pression réduite, reprend le résidu par du chlorure de méthylène, 10 filtre le précipité, le sèche et obtient 1 g de produit attendu.

On concentre le filtrat sous pression réduite, chromatographie le résidu sur silice sous une pression de 4 bars (éluant : acétate d'éthyle) et obtient 460 mg de produit attendu.

On obtient donc au total 1,46 g de produit attendu $F = 176^{\circ}\text{C}$.

15 **Stade B :** hydrazide de l'acide alpha-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène propanoïque.

On ajoute 100 mg de palladium sur charbon à 1g de produit obtenu au stade A en solution dans 20 ml d'un mélange eau-acide acétique (9/1). On hydrogène sous une pression de 2 atmosphères, à 20 température ambiante pendant 1 h 30. On filtre la suspension et le filtrat ainsi obtenus, évapore le solvant sous pression réduite et reprend le résidu avec 10 ml d'un mélange eau-méthanol (1/1). On purifie par chromatographie sur silice (éluant : méthanol-eau (1/1)).

25 On obtient 620 mg de produit attendu $F = 193^{\circ}\text{C}$.

Exemple 4 : chlorhydrate du N_1 -hydroxy 2-(phénylméthyl) N_3 (4-pyridinyl) 1,3-propanediamide.

On porte à 70°C pendant 1 heure, 500 mg de produit de l'exemple 2 sous forme de base en solution dans 10 ml de chlorure 30 de thionyle.

On refroidit ensuite à température ambiante, élimine le chlorure de thionyle sous pression réduite, reprend le résidu par 20 ml de benzène que l'on évapore ensuite sous pression réduite. On renouvelle 2 fois l'opération.

35 Le chlorure d'acide ainsi obtenu est dissous dans 20 ml de chlorure de méthylène. On ajoute à la solution goutte à goutte 258 μl de triéthylamine puis un mélange comprenant 435 μl de bis-triméthylhydroxylamine et 258 μl de triéthylamine en solution dans 10 ml de chlorure de méthylène. On maintient 1 heure sous agita- 40 tion à température ambiante puis évapore le solvant sous pression

réduite, reprend le résidu par 30 ml de méthanol et agite pendant 30 minutes à température ambiante, filtre le précipité, le sèche sous pression réduite et obtient 498 mg de produit attendu sous forme de base que l'on dissout dans 1 ml d'eau contenant 1 équivalent d'acide chlorhydrique. On lyophilise la solution obtenue et obtient le produit désiré sous forme de chlorhydrate F = 210°C.

Exemple 5 : bêta-[(4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène butanoate d'éthyle

10 On refroidit à 5°C 19g de 2-phényl méthyl butane dioate de 4-éthyle (Journal of the American Chemical Society 90 : 13, June 19, 1968) dans 100 ml de chlorure de méthylène puis ajoute goutte à goutte 10 ml de chlorure d'oxalyle.

15 On poursuit l'agitation en laissant revenir à température ambiante pendant 2 heures.

On ajoute alors 200 ml de tétrahydrofurane, refroidit à nouveau le mélange à -15°C, puis ajoute 32g de 4-aminopyridine en solution dans 300 ml de tétrahydrofurane.

20 Après que le mélange soit à température ambiante, on filtre et élimine les solvants sous pression réduite. On obtient une huile brune que l'on chromatographie sur silice (éluant : chlorure de méthylène) et recueille 24g d'une première huile jaune, 0,5g d'un solide jaune correspondant à une impureté peu polaire et 2,4g d'une seconde huile jaune.

25 On prélève 2g de la première huile jaune précédemment obtenue que l'on chromatographie de nouveau sur silice (éluant : chlorure de méthylène : 100-méthanol : 4,5) et obtient 1,8g de produit attendu sous forme de base. On solubilise le produit dans 50 ml d'acétate d'éthyle, ajoute 63 ml d'acide chlorhydrique 0,1N, 30 évapore le solvant sous pression réduite à 20°C et lyophilise la phase aqueuse restante pour obtenir le produit attendu sous forme de chlorhydrate après un séchage à 60°C (F ≈ 78°C).

On chromatographie également à nouveau sur silice les 2,4 g de la seconde huile jaune obtenue précédemment (éluant : chlorure de méthylène 100-méthanol 5) et obtient 2,3 g d'une huile incolore dont le spectre RMN confirme qu'elle correspond à l'isomère de position du produit de l'exemple 5, c'est-à-dire le (alpha-[2-oxo 2-(4-pyridinyl amino) éthyl] benzène propanoate d'éthyle).

40 Exemple 6 : Acide bêta-[[[(4-pyridinyl) amino] carbonyl] benzène butanoïque.

On refroidit à 10°C, 17 g de produit de l'exemple 5 en

solution dans 200 ml de méthanol, puis ajoute goutte à goutte 55ml d'hydroxyde de sodium N et laisse revenir à la température ambiante en 1 heure.

On évapore le mélange réactionnel de moitié sous pression 5 réduite puis refroidit la solution restante à -20°C et ajuste le pH à 4,5 avec de l'acide chlorhydrique 2N. On ajoute 200 ml d'acétate d'éthyle froid à la suspension obtenue, agite 10 minutes, filtre le précipité, le rince à l'éther, le sèche et obtient 9,4g de produit brut.

10 On en prélève 1g et effectue une recristallisation dans l'éthanol.

On obtient 0,7g de produit attendu.

Exemple 7 : N'-(phénylméthoxy) 2-(phényl méthyl) N-(4-pyridinyl) 1,4-butane diamide.

15 Avec de l'acide chlorhydrique 0,1N on ajuste le pH à 3 d'une solution renfermant 1,95g du produit obtenu à l'exemple 6 dans 399 ml d'eau et 100 ml de tétrahydrofurane.

On additionne à température ambiante 3,28 g de benzyl-
hydroxylamine en maintenant le pH à $3 \pm 0,2$ à l'aide d'une solu-
20 tion saturée en bicarbonate de sodium puis en 15 minutes 2,63 g de
1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDAC) en solution
dans 15 ml d'eau et laisse sous agitation pendant 1 h 30. On
filtre, verse le filtrat sur 500 ml d'une solution aqueuse de
bicarbonate de sodium à 5%, extrait à l'acétate d'éthyle, réunit
25 les phases organiques et élimine les solvants sous pression
réduite. Le résidu obtenu est chromatographié sur silice (éluant :
chlorure de méthylène méthanol 100-3,5).

On obtient :

0,70g d'un produit de cyclisation : 1a 3-(phénylméthyl)
30 1-(4-pyridinyl) 2,5-pyrrolidine dione (F = 112°C)
0,80g du produit attendu (F = 80°C) et
0,22g de l'isomère de position du produit attendu ou le
N'-(phénylméthoxy) 3-(phénylméthyl) N-(4-pyridinyl
1,4-butanediamide (F = 103°C).

35 Exemple 8 : chlorhydrate du N'-hydroxy 2-(phénylméthyl)
N-4(4-pyridinyl) 1,4-butanediamide.

On refroidit à -20°C 3,26 g de produit de l'exemple 7 en
solution dans 1 litre de chlorure de méthylène. On ajoute en 30
minutes à -20°C 3,29 ml d'un mélange éther-acide chlorhydrique
40 2,24N en solution dans 100 ml de chlorure de méthylène. En fin

d'addition, on fait barboter de l'argon dans le mélange réactionnel, élimine le solvant sous pression réduite à 20°C puis solubilise le produit obtenu dans l'eau froide. On ajoute 400 mg de palladium sur charbon et hydrogène pendant 3 heures sous une
5 pression de 1,4 bar.

On filtre, lyophilise la solution obtenue et obtient 1,91 g de produit attendu F = 137°C.

Exemple 9 : chlorhydrate de N'-hydroxy 3-(phénylméthyl) N-(4-pyridinyl) 1,4-butane diamide.

10 On opère comme à l'exemple 8, à partir de 710 mg de N'-(phénylméthoxy) 3-(phényl méthyl) N-(4-pyridinyl) 1,4-butane diamide obtenu à l'exemple 7 de 0,84 ml du mélange éther-acide chlorhydrique et de 200 mg de palladium sur charbon.

On obtient 0,31 g du produit attendu (F \approx 125°C).

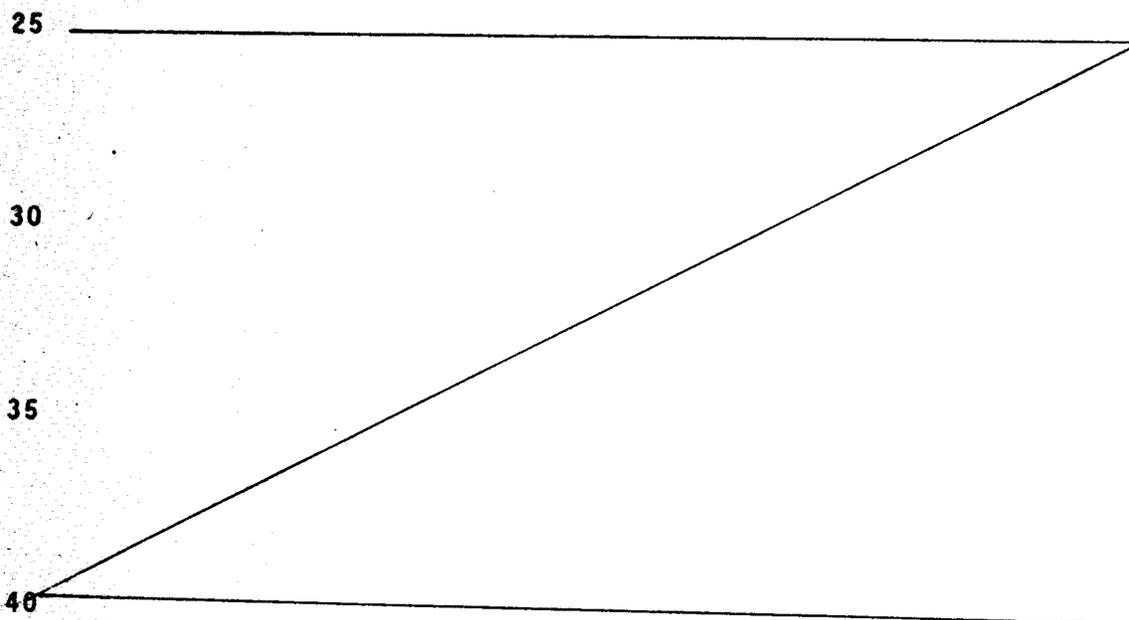
15 On a préparé également par un des procédés objet de l'invention le produit suivant :

le 2 formylhydrazide de l'acide alpha-2 [4-pyridinyl amino) carbonyl] benzène propanoïque F = 207°C.

Exemple 10 :

20 On a préparé des comprimés répondant à la formule :

- Composé de l'exemple 8..... 50 mg
- Excipient q.s. pour un comprimé terminé à..... 350 mg (détail de l'excipient : lactose, amidon, stéarate de magnésium, talc).



Étude biologique du produit de l'exemple 81.- Détermination de l'effet inhibiteur de l'enképhalinase et de l'aminopeptidasea) Effet inhibiteur de l'enképhalinase

5 L'activité de l'enképhalinase est déterminée à partir d'une fraction membranaire rénale de rat. Les reins sont prélevés sur glace et homogénéisés en tampon HEPES 0.05M pH 7,5 contenant du chlorure de magnésium (50 fois le volume). Après une première centrifugation à 1 500g, la fraction particulaire est obtenue à 10 l'issue d'une centrifugation à 15 000g de 20 minutes. Le culot est ensuite lavé et suspendu en tampon HEPES et conservé à -20°C. Une aliquote de cette préparation membranaire est mise en présence d'octyl bêta-D glucopyranoside (50mM en concentration finale) pendant 15 minutes à 4°C. Après centrifugation à 100 000 g pendant 15 une heure, le surnageant est prélevé et congelé par aliquotes à -20°C. La concentration en protéines est déterminée par la méthode au bleu de Comassie.

Une aliquote de la fraction protéinique ainsi préparée est pré-incubée à 25°C pendant 10 minutes en tampon HEPES 0.05M pH 7,5 20 ou en présence du produit à étudier. Le substrat ajouté est une enképhaline non naturelle de formule Succinyl-Ala-Ala-Phe-amino-méthylcoumarine (référence 1) (40 µM en concentration finale), l'incubation se poursuit à 37°C pendant 30 minutes. La réaction d'hydrolyse est stoppée par chauffage à 95°C pendant 5 minutes et 25 chaque incubat est centrifugé. Une solution d'aminopeptidase M (4 µM en concentration finale) et de thiorphan (référence 2) (10⁵M) est ajouté au surnageant et l'ensemble est porté à 37°C pendant une heure. La réaction est stoppée comme précédemment décrit et la fluorescence du 7-aminométhylcoumarine ainsi produit 30 déterminée. L'effet des produits à tester est déterminé par le calcul de la CI₅₀ en concentration qui inhibe de 50% l'hydrolyse du substrat.

Référence 1 : R.A. Munford, P.A. Pierzchala, A-W Strauss and M. Zimmerman

35 Purification of a membrane-bound metalloendo peptidase from porcine kidney that degrades peptides hormones.

Proc. Natl. Acad. Sci. 78 n° 11 p 6623.

Référence 2 : Inhibiteur de l'enképhalinase décrit à l'exemple 20 40 du BF - 2480747. La CI₅₀ trouvée est de 10⁻⁷M.

b) Effet inhibiteur de l'aminopeptidase

Le substrat Phe-aminométhylcoumarine (40 μ M) solubilisé en tampon HEPES 50 mM pH 7,4 est concentré en présence de l'aminopeptidase (0,2 μ g/ml) et de l'inhibiteur pendant trente minutes à 37°C. La réaction d'hydrolyse est stoppée par chauffage à 95°C et on mesure la fluorescence de la 7-aminométhylcoumarine ainsi formée.

L'effet du produit à tester est déterminé par le calcul de la CI_{50} ou concentration qui inhibe de 50% l'hydrolyse du substrat.

10 La CI_{50} trouvée est de 9×10^{-7} M.

2.- Etude de l'activité analgésique chez la souris**a) Etirements provoqués par l'acide acétique chez la souris.**

Le test employé est basé sur le fait signalé par R. KOSTER et Cool., (Fed. Proc. 1959, 1B 412) selon lequel l'injection intrapé-
15 ritonéale d'acide acétique provoque, chez la souris, des mouvements répétés d'étirement, de torsion pouvant persister pendant plus de 6 heures. Les analgésiques préviennent ou diminuent ce syndrome qui peut être considéré comme l'extériorisation d'une douleur abdominale diffuse. On utilise une solution d'acide
20 acétique à 1% dans l'eau administrée sous un volume de 10 ml/kg.

Le produit étudié est administré par voie buccale une demi-heure avant l'injection d'acide acétique, les souris étant à jeun depuis six heures au minimum.

Les étirements sont observés et comptés pour chaque souris
25 pendant une période d'observation de 15 minutes.

Les résultats sont exprimés au moyen de la DA_{50} , c'est-à-dire la dose qui permet d'obtenir une diminution de 50% du nombre des étirements par rapport aux animaux témoins. La DA_{50} trouvée est de 40 mg/kg.

30 b) Test de la plaque chaude chez la souris

Des souris femelles de poids corporel moyen 22g, à la diète hydrique depuis 6 heures, sont placées, une par une, sur une plaque de cuivre maintenue à 56°C : la réaction à la douleur se manifeste par le lèchage des pattes antérieures ou le saut de
35 l'animal ; le temps de cette réaction est noté et l'on ne retient que les souris réagissant en moins de 8 secondes.

Les souris sont réparties par groupes et traitées per os, un groupe ne recevant que le véhicule. Le temps de réaction à la douleur est de nouveau mesuré 30 - 60 et 90 minutes après le
40 traitement. Les variations du temps de réaction sont exprimées en

pourcentage du temps de départ, compte tenu des variations du groupe témoin. On détermine graphiquement la DA₁₀₀, ou dose qui augmente le temps de réaction de 100%, 60 minutes après le traitement. La DA₁₀₀ trouvée est de 100 mg/kg.

5

10

15

20

25

30

35

40

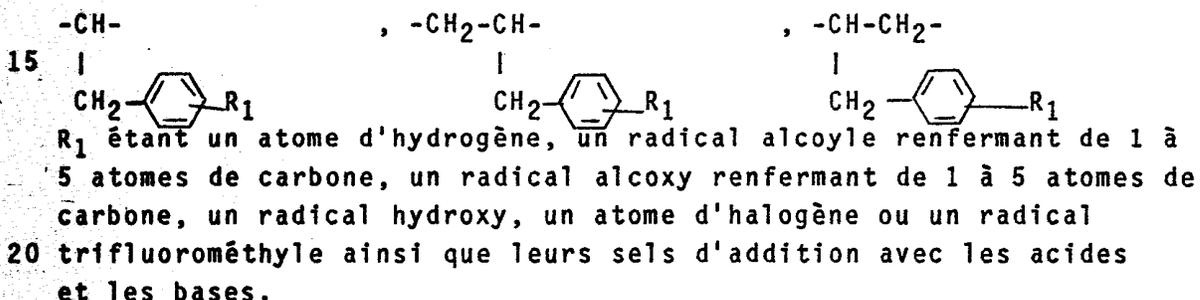
REVENDICATIONS

1) Les composés de formule (I) :

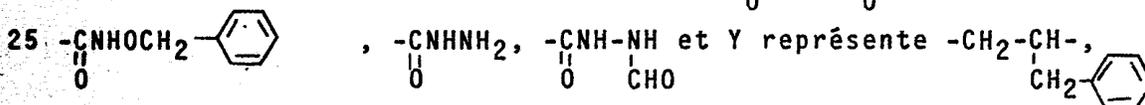


dans laquelle X représente l'un des groupements suivants : $-COOH$, $-COOR$, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de
 10 carbone, $-CNH_2$, $-CNHOH$, $-CNHO-CH_2-$  $-CNHNNH_2$,

$-CNH-NH$, Y représente l'un des groupements suivants :



2) Les composés de formule (I) tels que définis à la revendication 1 dans laquelle X représente un groupe $-CNH_2$, $-CNHOH$,

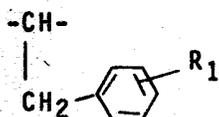
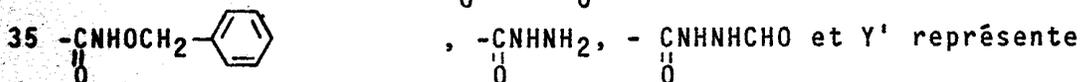


ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases.

3) Le N'-hydroxy 2-(phénylméthyl) N-(4-pyridinyl) 1,4-butane diamide et son chlorhydrate.

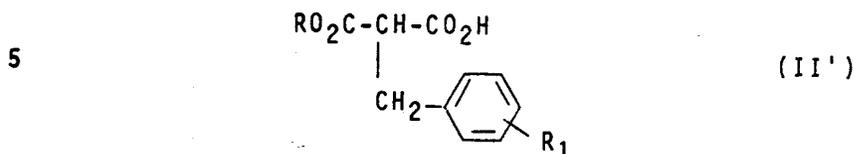
30 4) procédé de préparation des produits de formule (I') dans laquelle X représente l'un des groupes suivants :

$-COH$, $-COOR$, R étant un radical alcoyle renfermant de 1 à 5
 0 atomes de carbone, $-CNH_2$, $-CNHOH$,

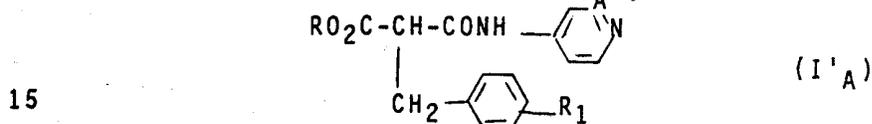


R₁ étant un atome d'hydrogène, ou un radical alcoyle renfermant
 40 de 1 à 5 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5

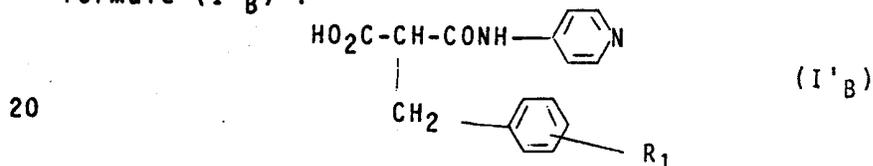
atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un radical trifluorométhyle, caractérisé en ce que l'on soumet le produit de formule (II') :



dans laquelle R est un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone et R₁ a la signification indiquée précédemment, à un agent de chloruration et en ce que l'on condense le chlorure de l'acide de formule II' ainsi obtenu avec la 4-aminopyridine pour obtenir le produit de formule (I'A') :

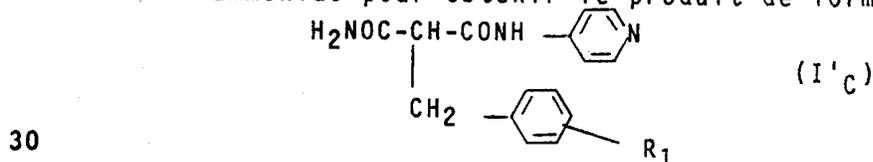


que l'on saponifie, le cas échéant, pour obtenir le produit de formule (I'B') :

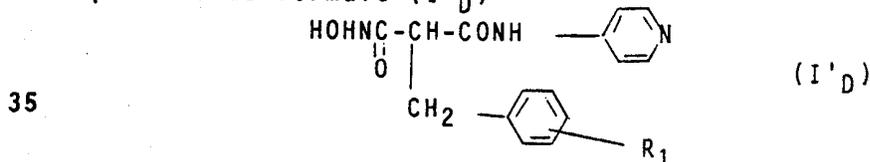


on soumet, le cas échéant, la fonction carbonyle de ce produit (I'B') soit à une chloruration pour obtenir le chlorure de l'acide alpha-[(4 pyridinylamino) carbonyl] benzène propanoïque que l'on traite :

- avec l'ammoniac pour obtenir le produit de formule (I'C')



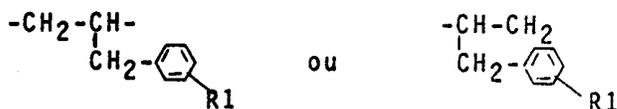
- ou bien avec la bis triméthylsilylhydroxylamine, pour obtenir le produit de formule (I'D')



soit à une activation et traite le produit de formule (I_B) ainsi activé :

- avec la benzylhydroxylamine pour obtenir le produit de formule (I'E') :

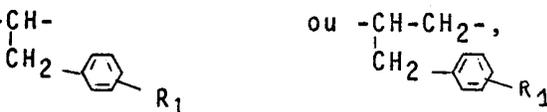
40



R_1 étant un atome d'hydrogène, un radical alcoyle renfermant de 5 à 10 atomes de carbone, un radical alcoxy renfermant de 1 à 5 atomes de carbone, un radical hydroxy, un atome d'halogène ou un radical trifluorométhyle caractérisé en ce que l'on soumet un produit de formule (II") :



10 dans laquelle R est un radical alcoyle renfermant de 1 à 5 atomes de carbone et Y'' $-\text{CH}_2-\text{CH}-$ ou $-\text{CH}-\text{CH}_2-$,



R_1 ayant la signification précédente à un agent de chloruration et en ce que l'on condense le chlorure de l'acide de formule IV ainsi obtenu avec la 4-aminopyridine pour obtenir un mélange des 2 produits de formule (I" A)



R et Y'' ayant la signification précédente, produits de formule (I" A) que l'on sépare puis que l'on saponifie, le cas échéant, pour obtenir les 2 produits de formule (I" B) :

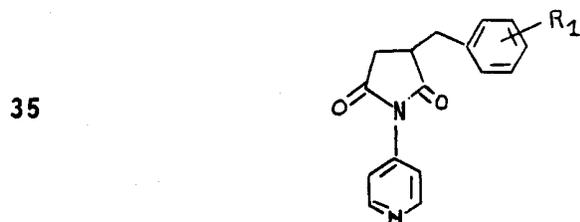


Y'' ayant la signification donnée précédemment, produits de formule (I" B) dont on active, le cas échéant, la fonction acide et que l'on traite ensuite :

soit avec l'ammoniac pour obtenir un mélange des 2 produits de formule (I" C) suivants :



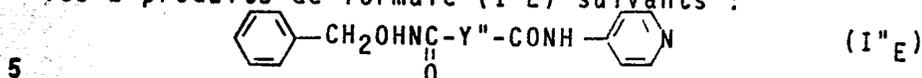
Y'' ayant la signification donnée précédemment ainsi que le produit de cyclisation de formule V suivant :



(V)

40 R_1 ayant les valeurs précédemment indiquées, produits de formule

(I^c) que l'on isole du mélange,
soit à la benzylhydroxylamine pour obtenir un mélange renfermant
les 2 produits de formule (I^e) suivants :

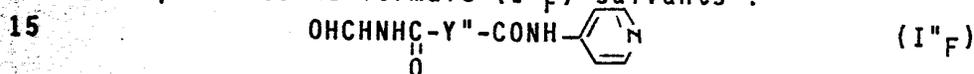


et du produit de cyclisation de formule V précédemment décrit,
produits de formule (I^e) que l'on isole du mélange et que l'on
soumet, le cas échéant, à une hydrogénation catalytique pour
obtenir les produits de formule (I^d) :



Y'' ayant la signification donnée précédemment.

soit avec la formylhydrazine pour obtenir un mélange renfermant
les 2 produits de formule (I^f) suivants :

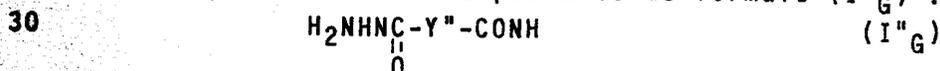


Y'' ayant la signification donnée précédemment et du produit de
cyclisation de formule V précédemment décrit, produits de formule
(I^f) que l'on isole du mélange,

20 soit avec un produit de formule R₂NHNNH₂, R₂ étant un
groupement bloqueur de l'hydrazine, pour obtenir les produits
intermédiaires suivants :



25 Y'' ayant la signification donnée précédemment, sous forme de
mélange de produits III^e ; ces mélanges comportant aussi le
produit de cyclisation de formule V, produits intermédiaires que
l'on isole du mélange obtenu et dont on élimine le groupement
bloqueur pour obtenir les produits de formule (I^g) :



Y'' ayant la signification donnée précédemment que l'on soumet, le
cas échéant, à l'action du mélange anhydride acétique-acide
formique, pour le produit de formule (I^f) telle que décrite ci-

35 dessus.

produits de formule (I^g) que l'on soumet, le cas échéant, à
l'action d'un acide ou d'une base pour en former le sel

40 correspondant.

- 6) A titre de médicaments, les composés de formule (I) telle que définie à la revendication 1 ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases pharmaceutiquement acceptables.
- 7) A titre de médicaments, les composés de formule (I) telle que
5 définie à la revendication 2, ainsi que leurs sels d'addition avec les acides et les bases pharmaceutiquement acceptables.
- 8) A titre de médicament, le composé de la revendication 3.
- 9) Les compositions pharmaceutiques contenant à titre de principe actif, l'un au moins des médicaments tels que définis aux
10 revendications 6 à 8.
- 10) A titre de composés industriels nouveaux :
les produits de formule III' et le chlorure de l'acide alpha-[(4-pyridinylamino) carbonyl] benzène propanoïque tels que définis à la revendication 4.
- 15 11) A titre de composés industriels nouveaux :
les produits de formule V et III" tels que définis à la revendication 5.