PCT ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets[3] :
C07C 153/09, 149/24, 103/52
C07C 157/14, C07F 9/165
A61K 31/265, 31/155, 31/66
A61K 37/02

A1

(11) Numéro de publication internationale: WO 85/ 00167

(43) Date de publication internationale: 17 janvier 1985 (17.01.85)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR84/00159

(22) Date de dépôt international: 21 juin 1984 (21.06.84)

(31) Numéro de la demande prioritaire: 83/10318

(32) Date de priorité: 22 juin 1983 (22.06.83)

(33) Pays de priorité: FR

(71) Déposant *(JP seulement):* CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 15, quai Anatole France, F-75007 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(US seulement) :* OIRY, Joël [FR/FR]; 34, lotissement Château Bon, Route de Lavérune, F-34100 Montpellier (FR). IMBACH, Jean-Louis [FR/FR]; Chemin Clos des Oliviers, 1108, rue de las Sorbes, F-34000 Montpellier (FR).

(74) Mandataire: WARCOIN, Jacques; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).

(81) Etats désignés: JP, US.

Publiée
Avec rapport de recherche internationale.
Avec revendications modifiées.

(54) Title: NEW RADIOPROTECTOR AGENTS HAVING AN AMINO-THIOALKYL STRUCTURE AND PREPARATION METHOD THEREOF

(54) Titre: NOUVEAUX AGENTS RADIOPROTECTEURS AYANT UNE STRUCTURE AMINO-THIOALKYLE ET PROCEDE POUR LEUR PREPARATION

(57) Abstract

The present invention relates particularly to chemical compounds having the formula (I), R_1-CO-NR_3-[A]-S-R_2 wherein R_1 is a radical corresponding to an amino acid R_1-COOH, [A] is an alkylene radical at C_2 or C_3 which may be substituted by C_1-C_3 alkyl radical, a hydroxy radical, a hydroxy carbonyl or -COR radical wherein R is an amino radical or -NH-CH_2-CO_2-H, R_2 is a protecting radical for the thiol function which releases the thiol function in vivo, R_3 is hydrogen or, bound to the group R_2, forms a protection cycle protecting the thiol function; as well as the salts of those compounds with pharmaceutically acceptable acids. The invention also relates to the application of those compounds as radioprotector agents and a method for the preparation thererof.

(57) Abrégé

La présente invention concerne, notamment, les composés chimiques de formule (I) R_1-CO-NR_3-[A]-S-R_2, dans laquelle R_1 est un radical correspondant à un aminoacide R_1-COOH, [A] est un radical alkylène en C_2 ou C_3 qui peut être substitué par un radical alcoyle en C_1 à C_3, un radical hydroxy, hydroxycarbonyl ou un radical -COR où R est un radical amino ou -NH-CH_2-CO_2-H, R_2 est un radical protecteur de la fonction thiol qui libère la fonction thiol in vivo, R_3 est l'hydrogène ou relié au groupement R_2 forme un cycle protecteur de la fonction thiol; ainsi que les sels de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables. L'invention concerne également l'application de ces composés comme agents radioprotecteurs et un procédé pour leur préparation.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	**KR**	République de Corée
AU	Australie	**LI**	Liechtenstein
BE	Belgique	**LK**	Sri Lanka
BG	Bulgarie	**LU**	Luxembourg
BR	Brésil	**MC**	Monaco
CF	République Centrafricaine	**MG**	Madagascar
CG	Congo	**MR**	Mauritanie
CH	Suisse	**MW**	Malawi
CM	Cameroun	**NL**	Pays-Bas
DE	Allemagne, République fédérale d'	**NO**	Norvège
DK	Danemark	**RO**	Roumanie
FI	Finlande	**SD**	Soudan
FR	France	**SE**	Suède
GA	Gabon	**SN**	Sénégal
GB	Royaume-Uni	**SU**	Union soviétique
HU	Hongrie	**TD**	Tchad
JP	Japon	**TG**	Togo
KP	République populaire démocratique de Corée	**US**	Etats-Unis d'Amérique

NOUVEAUX AGENTS RADIOPROTECTEURS AYANT UNE STRUCTURE AMINO-THIOALKYLE ET PROCEDE POUR LEUR PREPARATION

Les radioprotecteurs représentent une classe de composés particulièrement étudiés dans la littérature et caractérisés, pour la plupart d'entre eux, par la présence d'une fonction SH ou d'un de ses blo-
5 précurseurs.

Le principal mode d'action de ces composés est lié à la capacité présentée par le groupement thiol de piéger les radicaux libres induits intracellulairement par les radiations de diverse nature, empêchant
10 ainsi des dommages permanents dans les cellules.

Une structure type, des plus étudiées, est celle de la cystéamine (ou MEA) (1) :

$$NH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SH \qquad (1)$$

et le radioprotecteur actuellement le plus actif est un
15 dérivé de la cystéamine de structure (2) : le WR 2721

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

$$NH_2-(CH_2)_3-NH-CH_2-CH_2-S-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{OH}{|}}{P}}-OH \qquad (2)$$

Ce composé est substitué du côté N terminal de la cystéamine par une chaîne aminoalkyle et du côté S terminal par une fonction phosphorothioate qui présente le double avantage de conférer une bonne solubilité aqueuse à la molécule et de protéger dans un premier stade la fonction thiol qui peut être libérée "in situ" par action des phosphatases ou même par hydrolyse.

En général, les radioprotecteurs conduisent à une protection non sélective des cellules, qu'elles soient saines ou malignes (par exemple la cystéamine, la cystéine, etc.).

Or, le WR 2721 possède la propriété remarquable de protéger sélectivement les tissus normaux contre les dommages induits par les radiations tout en laissant les tumeurs solides supporter seules l'effet des radiations.

En d'autres termes, cette drogue se concentre sélectivement dans les cellules saines et non dans les cellules cancéreuses. L'origine de cette sélectivité n'est pas encore fermement établie.

Quoiqu'il en soit, l'intérêt de cette nouvelle classe de radioprotecteurs sélectifs est très importante de par leur utilisation potentielle en radio-thérapie, ce qui permettrait de diminuer le nombre de cancers induits.

Il semblerait aussi que le WR 2721 puisse exercer un effet protecteur sélectif lors des chimiothérapies avec des drogues alkylantes telles que le cisplatine, le cyclophosphamide et les moutardes à l'azote. De plus, ce composé est le premier radioprotecteur approuvé par la FDA et il a fait l'objet d'études phase I tant aux Etats-Unis d'Amérique qu'au Japon.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

La présente invention concerne des dérivés de la cystéamine qui présentent un bon pouvoir radioprotecteur sélectif et dont certains sont des inducteurs d'interféron.

Les composés selon la présente invention correspondent à la formule :

$$R_1\text{-CO-Y-/A/-Y'-}R_2$$

dans laquelle Y et Y' représentent l'un -S- et l'autre $-NR_3-$.

Plus particulièrement. les composés selon la présente invention correspondent à la formule Ia ou Ib :

$$R_1\text{-CO-}NR_3\text{-/A/-S-}R_2 \qquad \text{(Ia)}$$

$$R_1\text{-CO-S-/A/-}NR_3\text{-}R_2 \qquad \text{(Ib)}$$

dans lesquelles R_1 est un radical correspondant à un amino-acide ou un di ou tripseudopeptide R_1-COOH, /A/ est un radical alkylène en C_2 ou C_3 qui peut être substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyles en C_1 à C_3, un radical hydroxy libre ou estérifié, hydroxycarbonyle libre ou estérifié ou radical -COR dans lequel R est un radical amino ou $-NH-CH_2-CO_2-H$, R_2 est un radical protecteur de la fonction thiol qui libère la fonction thiol "in vivo", R_3 est l'hydrogène ou un radical alkylène en C_1 à C_3 ou, relié au groupement R_2, forme un cycle protecteur de la fonction thiol.

L'invention concerne également les sels de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

Parmi les aminoacides de formule R_1-COOH, il faut citer ceux dans lesquels R_1 est un radical alcoyl-amino en C_1 à C_7 droit ou ramifié, en particulier en C_1 à C_4 tel que les dérivés de l'alanine, de la glycine et de la sarcosine ainsi que les dérivés alkyles substitués sur l'amine. Le radical R_1 peut également provenir d'un di ou tripseudopeptide, par "pseudopeptide" on

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

entend désigner un enchaînement de 2 ou 3 acides aminés naturels ou non, tels que ceux définis précédemment, par exemple un enchaînement gly-gly ou ala-gly.

R_2 est défini comme un radical protecteur de la fonction thiol, ceci est vrai au sens propre dans le cas des composés (Ia), mais pour les composés (Ib) qui sont des dérivés symétriques de (Ia), il s'agit là d'une définition fonctionnelle puisque R_2 n'est pas sur un atome de soufre mais sur une fonction aminée, néanmoins les essais ont montré que les deux types de composés, (Ia) et (Ib) présentaient des propriétés voisines.

Parmi les radicaux R_2, on peut envisager divers types de radicaux suivant la nature de la réaction qui va libérer la fonction thiol :

soit par transposition S $\longrightarrow$ N,

par exemple :

$$R_1\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CR}_5(=R_4) \rightarrow R_1\text{-CO-N}(R_4R_5)\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-H}$$

où R_4 = O, S, NH, N(C_1-C_7)alkyle, R_5 = H, C_1-C_7 alkyle, aryle substitué ou non, NH_2, SH ;

soit par une activation bioréductrice d'un pont disulfure, par exemple :

$$R_1\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}\longrightarrow R_1\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH} + R_6SH$$

$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad |$$

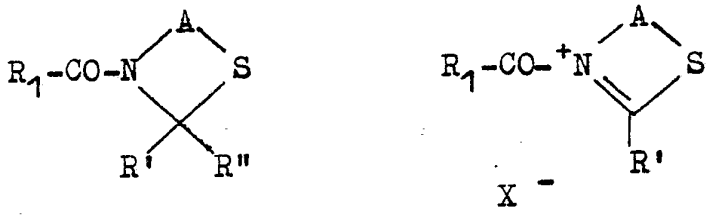
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad R_6\text{-S}$$

R_6 pouvant être une chaîne R_7-CO-NR_3-/A/, c'est-à-dire que le composé peut être un dérivé de la cystamine, ou bien un radical aryle ou C_1-C_7-alkyle non substitué ou substitué;

soit par hydrolyse enzymatique ou non, dans ce cas : R_2 = SO_3H ou PO_3H_2 ou alcanoyloxy en C_2 à C_7 ;

enfin, le groupement thiol peut être masqué par inclusion dans une structure cyclique de type thiazolique, soit :

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL



où R' = H, C_1-C_7-alkyle, aryle, NH_2,
R" = H, C_1-C_7-alkyle, aryle.

La plupart de ces composés possédant des atomes d'azote basique peuvent être préparés sous forme de sels quaternaires. L'anion utilisé X^- étant de nature diverse , par exemple : Br^-, Cl^-, $CF_3CO_2^-$, CH_3-C_6H_4-SO_3^- , $CH_3CO_2^-$.

Parmi les radicaux aryles mentionnés, il faut citer les radicaux aryles monocycliques, notamment le radical phényle qui peut être substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène notamment le chlore, par un ou plusieurs radicaux C_1-C_3-alkyle ou hydroxy.

Parmi les composés préférés de la présente invention, il faut citer les composés de formule :

$$R_7\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S-(C=O)-alk}_3$$

et

$$R_7\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-S-alk}_2\text{-NH-(C=O)-alk}_3$$

dans lesquelles R_7 est H ou un radical alkyle en C_1 à C_3, alk_1 est une chaîne alkylène droite ou ramifiée en C_1 à C_7, alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyl ou hydroxy libre ou estérifié, alk_3 est un radical C_1-C_7-alkyle non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de chlore, et notamment :
la glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la L-alanyl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la γ-aminobutyryl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la glycyl-N-(S-dichloroacétyl)-cystéamine,

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

le glycylamino-2-diméthyl-2,2-thioacétyl-1-éthane I 108,
le glycylamino-3-acétoxy-2-thioacétyl-1-propane I 111,
le glycyl-N[(méthyl-2-acétylmercapto-2-éthyl]-amide I 118,
la sarcosyl-N-(S-acétyl)-cystéamine I 123,
le glycylthio-2-diméthyl-1,1-acétamido-1-éthane I 107,
la glycyl-S-(N-acétyl)-cystéamine I 114,
ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants,
ainsi que les composés de formule :

$$R_8\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S}$$
$$R_8\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S}$$

dans laquelle R_8 est H ou un radical alkyle en C_1 à C_3, alk_1 est une chaîne alkylényl droite ou ramifiée en C_1 à C_7 et alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyl ou hydroxy libre ou estérifié, et notamment :
la diglycyl-N,N'-cystamine,
la di-L-alanyl-N,N'-cystamine,
le di-γ-aminobutyryl-N,N'-cystamine,
le di-(glycylamino-3-acétoxy-2-propyl)-1,2 disulfure I 110,
la di-sarcosyl-N,N'-cystamine I 124,
ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants.

Les composés des formules précédentes sont également intéressants lorsque R_7 ou R_8 représente le radical d'un acide aminé ou d'un dipeptide, en particulier lorsque R_7 ou R_8 représente $-NH_2\text{-alk}_4\text{-C(=O)-}$ ou $NH_2\text{-alk}_5\text{-C(=O)-NH-alk}_4\text{-C(=O)-}$ par exemple alk_4 et alk_5 étant des radicaux alkylène droit ou ramifié en C_1 à C_7 de préférence en C_1 à C_4.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Parmi ces composés il faut citer :
la di-glycylglycyl-N,N'-cystamine I 116,
la glycylglycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine I 109.

Parmi les autres composés intéressants, on peut citer les composés de formule :

$$R_7\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S-}R_9$$

dans laquelle R_7, alk_1 et alk_2 ont les significations données précédemment et R_9 est $\underset{\underset{NH}{\|}}{C}\text{-NH}_2$, $-SO_3H$ ou $-PO_3H_2$ ou les sels de ces fonctions.

En particulier on peut citer :
le glycyl-(N-isothiouronium-2-éthyl)amine,
l'acide (glycylamino-2)-éthylthiosulfurique,
le glycylamino-2-S-éthylphosphorothioate de sodium.

L'un des avantages des composés selon l'invention par rapport au produit WR 2721 est qu'ils sont plus stables.

Les composés selon la présente invention peuvent être préparés par des procédés analogues à ceux utilisés dans la synthèse des peptides.

Les significations des abréviations utilisées ont été rassemblées à la fin de la description.

De façon générale, les composés selon l'invention sont obtenus par déprotection d'un composé de formule :

$$(pro)R_1\text{-CO-NR}_3\text{-[A]-S-}R_2$$

en éliminant le ou les groupements protecteurs (pro) du radical amino, les groupements protecteurs étant, de préférence, les groupements benzyloxycarbonyl et terbutoxycarbonyl. Les composés protégés peuvent être synthétisés comme cela sera décrit ci-après.

Ainsi, les composés sont obtenus en couplant un AA N-protégé par un Z ou par un BOC avec une cystéamine (β-mercaptoéthylamine-MEA) S-substituée (schéma 1). Les solvants de condensation sont l'acétate d'éthyle ou

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

le THF. Le DCC ou le t-PNC (J. Martinez et coll., Bull. Soc. Chim. Fr., 1972, 12, 4707) en présence de TEA sont les agents de couplage.

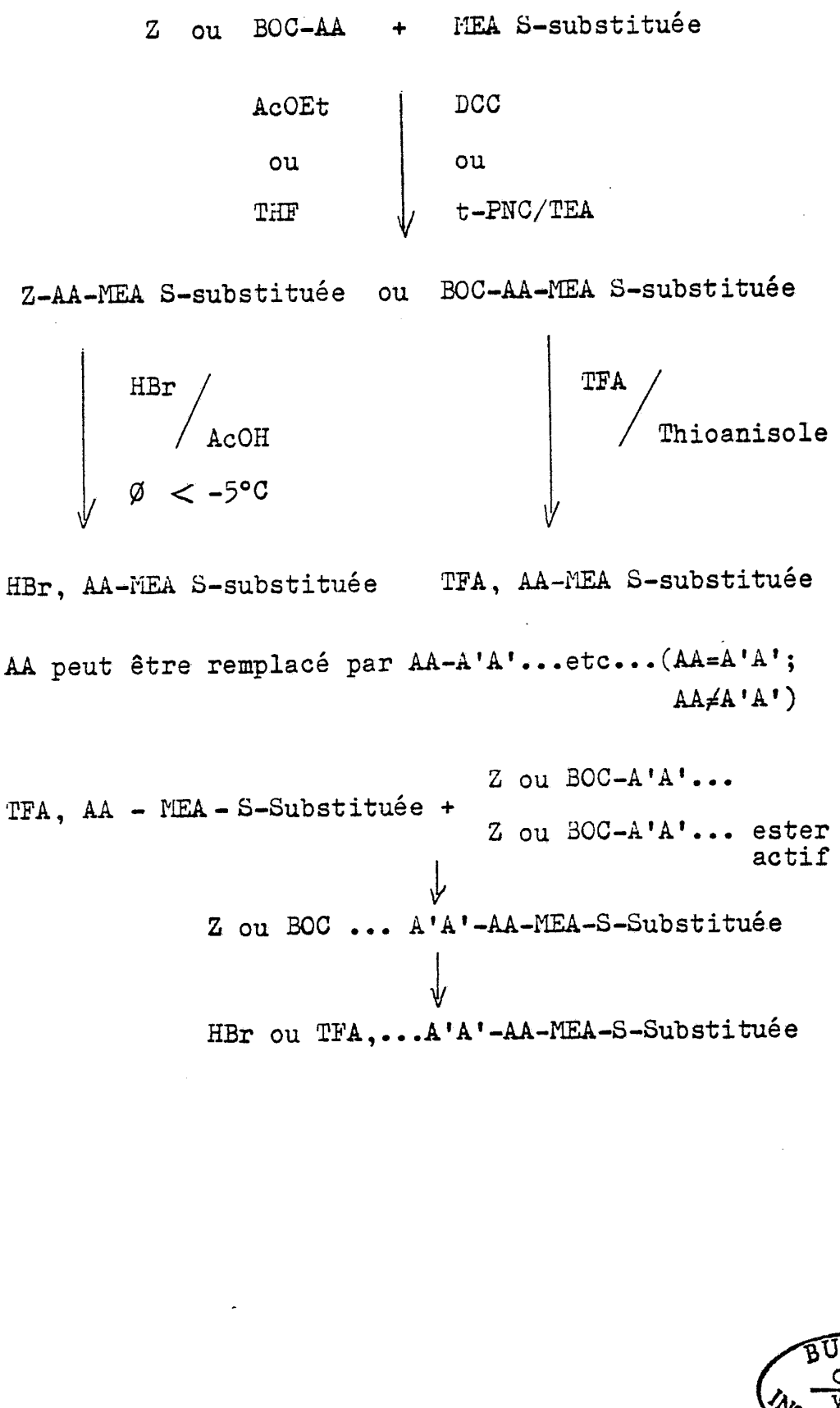
Les amines terminales sont ensuite déprotégées, soit par l'acide bromhydrique en solution dans l'acide acétique glacial à basse température pour les Z, soit par l'acide trifluoroacétique pour les BOC et obtenues sous forme de bromhydrates ou de trifluoroacétates.

Le remplacement de l'aminoacide par un dipeptide ou tripeptide permet d'obtenir les mêmes dérivés S-substitués du schéma 1 en séries pseudo-dipeptidique ou tripeptidique etc. De même, l'allongement de la chaîne côté N-terminal peut se faire par un nouveau couplage avec un autre amino-acide ou avec un dipeptide etc. correctement protégés ou activés.

Il est également possible de reproduire toutes les séquences qui précèdent mais en utilisant une halogénoalkylamine au lieu de la MEA-S-substituée. Les pseudopeptides halogénés, en particulier bromés, seront ensuite condensés avec les réactifs appropriés pour obtenir les mêmes composés (schéma 2).

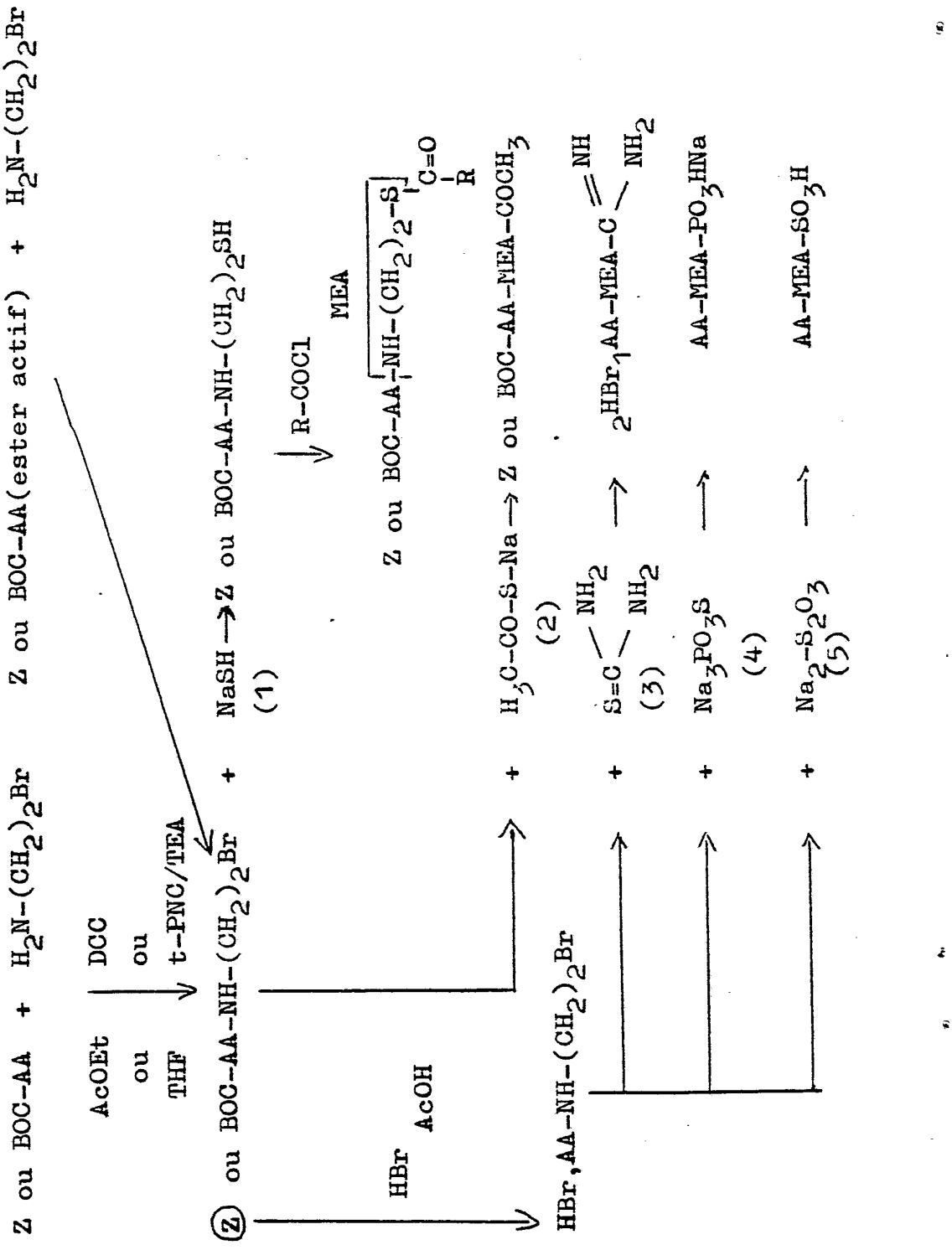
BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

SCHEMA 1



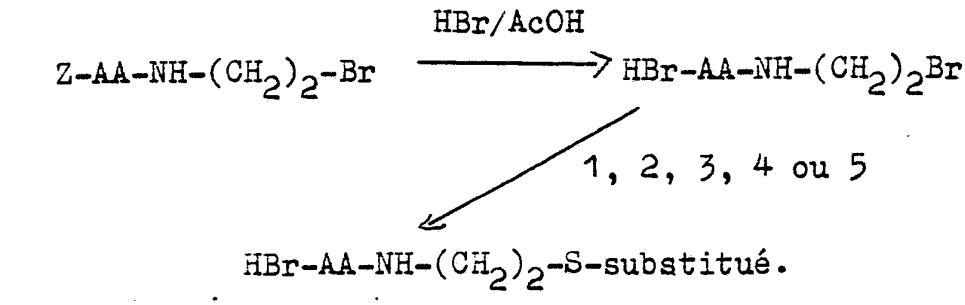
BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

SCHEMA 2

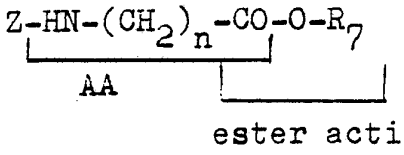


BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Il est également possible de parvenir aux mêmes S-substitutions de la façon suivante :



Parmi les esters actifs d'aminoacide utilisables dans ce type de réaction, il faut citer les composés de formule



R_7 = succinimido,
= para-nitrophényl,
= trichloro-2,4,5-phényl,
= dichloro-2,6-p-nitrophényl.

La synthèse des dérivés de cystamine peut être réalisée selon deux méthodes différentes :

Méthode utilisant les dérivés précédents de la MEA (schéma 3)

Les deux pseudopeptides N-protégés par un Z ou un BOC et S-substitués sont hydrolysés par le méthylate de sodium côté S-terminal puis oxydés par l'iode dans de l'acide acétique aqueux pour former les Di-Z ou di-BOC pseudopeptides cystamines. Les amines terminales sont ensuite déprotégées par l'acide bromhydrique en solution acide acétique glacial ou par l'acide tri-fluoroacétique en présence de thioanisole. Les pseudo-peptides sont obtenus sous forme de leurs di-bromhydrates ou di-trifluoroacétates.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Il est également possible d'éviter une étape en utilisant un dérivé halogéné (Z ou BOC) qui sera condensé avec l'hydrogénosulfure de sodium et formera directement le thiol correspondant Z-AA-MEA ou BOC-AA-MEA.

Méthode utilisant la cystamine (schéma 4)

Dans ce cas, on obtient directement des di-Z-AA-cystamine ou di-BOC-AA-cystamine. Ces dérivés sont synthétisés par condensation, dans le DMF en présence de TEA, d'un Z-AA activé ou d'un BOC-AA activé côté acide terminal par un ester approprié sur la cystamine.

Les di-Z ou di-BOC-AA-cystamine sont ensuite traités par l'acide bromhydrique en solution acide acétique glacial ou par l'acide trifluoroacétique et fournissent leurs sels d'amines respectifs.

les di-Z ou di-BOC-AA-cystamine sont également obtenus à partir des Z ou BOC glycines et de la cystamine en utilisant un agent de couplage (t-PNC ou DCC).

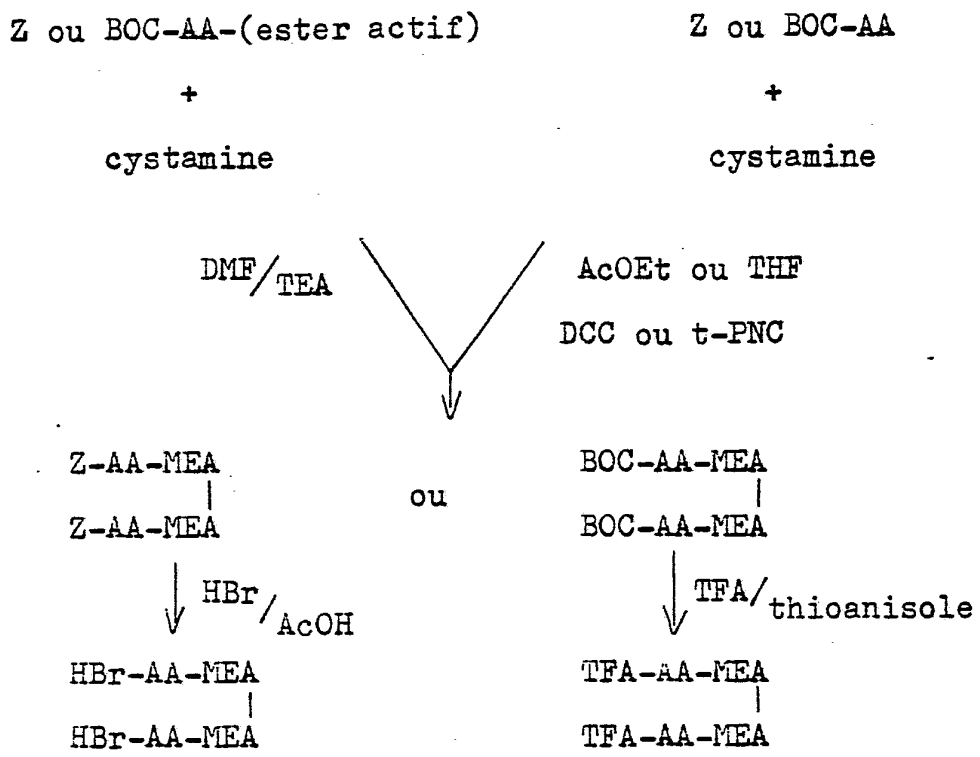
Les sels d'amines peuvent être libérés et remplacés par d'autres ions. De même, la libération des sels des diaminoacide-cystamines perret d'augmenter la chaîne côté N-terminal avec d'autres aminoacides et de former des tétrapseudopeptides, etc., par couplages classiques. Il est également possible de les obtenir par les méthodes classiques déjà citées par couplage des Z ou BOC di, tripeptides, etc., activés ou non par un ester, avec la cystamine (Schéma 5).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

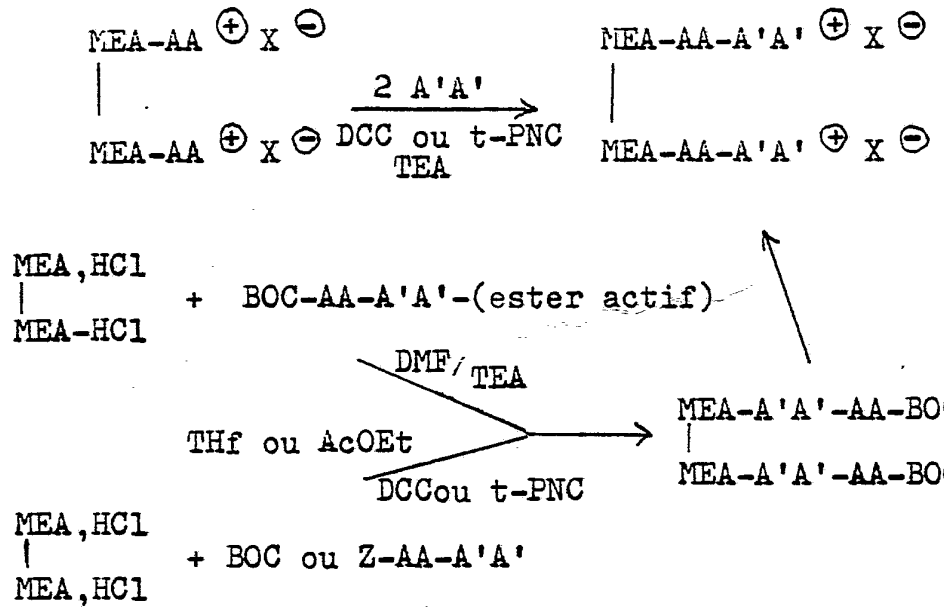
SCHEMA 3

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

SCHEMA 4



SCHEMA 5



AA=A'A' ou AA ≠ AA'

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

La présente invention concerne également l'application des composés selon la présente invention à titre d'agent radioprotecteur et des compositions pharmaceutiques les contenant pour ce type d'application ou bien comme agent inducteur d'interféron dans le traitement des maladies sensibles à l'interféron.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples ci-après.

EXEMPLE 1

Z-GLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Méthode générale de couplage faisant intervenir un Z-AA

Une solution de 4,598 g (0,022 mole) de Z-glycine dans 80 ml de THF est agitée à 0°C avec 3,88 g (0,011 mole) de t-PNC (le dichlohexylcarbodiimide-DCC- également utilisé conduit au même rendement) préalablement dissous dans 20 ml de THF ou d'acétate d'éthyle. Au bout de 30 minutes d'agitation à 0°C, on ajoute 2,4 ml de TEA et on laisse agiter à nouveau 30 minutes. Au terme de ce temps on verse une solution de 3,421 g (0,022 mole) de chlorhydrate de S-acétyl-cystéamine (préparé selon T. Wieland et E. Bokelmann, Ann. Chem., 1952, 576, 20) dans 50 ml de THF ou d'acétate d'éthyle. L'agitation est maintenue à 0°C durant 30 minutes puis on laisse revenir à température ambiante en maintenant le pH basique par addition de TEA. La réaction est suivie par CCM dans un éluant de chloroforme/méthanol (9/1) et le temps nécessaire au couplage est d'environ 2-3 heures dans ce cas.

Le mélange est alors évaporé à sec sous pression réduite puis repris par 500 ml d'acétate d'éthyle et 2 x 200 ml de bicarbonate de sodium aqueux saturé glacé. La phase organique est ensuite décantée et lavée avec 2 x 200 ml d'acide chlorhydrique aqueux glacé 5 % et avec 2 x 200 ml d'eau (pH neutre) puis séchée sur

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

sulfate de sodium et évaporée à sec sous vide. On recueille 5 g d'une huile légèrement jaune.

Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/ éther de pétrole 8/2).

CCM (chloroforme/méthanol 9/1) R_F = 0,5. Détection : UV ou vapeurs d'iode, Rdt = 45 %. Cristallise de l'acétate d'éthyle. F = 100-103°C.

Analyse : $C_{14}\ H_{18}\ N_2\ SO_4$ (310)

calculé % : C 54,19 H 5,80 N 9,03

trouvé % : C 54,28 H 5,68 N 9,10

Spectre IR (KBr) $\nu\ cm^{-1}$: 3320, 3280 (NH); 1665, 1625 (C=O); 1515 (amide I)

Spectre de RMN (DMSO d_6) : δ ppm : 7,33 (s-5H) benzyl; 6,75 et 5,75 (2m-2H)2NH (échangeable à l'eau lourde); 5,10 (s-2H) CH_2 benzyl ; 3,82 (d-2H) CH_2 CO ; multiplet entre 2,70 et 3,60 (4H) CH_2-CH_2 ; 2,30 (s-3H) $COCH_3$.

EXEMPLE 2

BROMHYDRATE DE GLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Méthode générale de déblocage de l'amine avec formation de bromhydrate

On agite à une température inférieure à -5°C, sous atmosphère d'azote, en protégeant de la lumière, un mélange de 1,49 g ($4,8.10^{-3}$ mole) de Z-glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine et de 4 ml d'une solution fraîchement préparée d'acide acétique glacial (ACOH) saturé d'acide bromhydrique (HBr). En 30 minutes, la réaction est terminée. Le bromhydrate est précipité du mélange par addition de 80 ml d'éther anhydre glacé puis la phase éthérée est décantée. Cette opération de lavage à l'éther est effectuée 5 fois. L'huile résiduelle est ensuite reprise par 30 ml d'eau distillée et lyophilisée. On recueille avec un rendement de 90 % le dérivé attendu sous forme d'une pâte incolore et très hygroscopique. Il sera conservé sous atmosphère d'azote ou sous vide.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Spectre de RMN (D_2O) : 3,78 (s-2H) CH_2 glycine; 3,46 (m-2H) N-CH_2 ; 3,05 (m-2H) S-CH_2 ; 2,35 (s-3H) $COCH_3$.

EXEMPLE 3

Z-L-ALANYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Réaction de couplage selon la méthode générale

Réactifs utilisés : 11,25 g (0,005 mole) de Z-alanine dans 200 ml de THF. 8,7 g de t-PNC dans 20 ml de THF. 7 ml de TEA. 7,75 g (0,005 mole de chlorhydrate de S-acétyl-cystéamine dans 150 ml de THF.

Le mélange est maintenu basique par addition de 7 ml de TEA et la réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane/méthanol 9/1) est terminée en 4 heures. Après les traitements déjà décrits, on obtient 15 g d'une huile qui est chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/éther de pétrole 8/2). Le dérivé attendu est recueilli sous forme d'une huile qui cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole 6/3. Rdt = 80 %. F = 78-80°C.

Analyse : C_{15} H_{20} N_2 SO_4 (324)

calculé % : C 55,55 H 6,17 N 8,64

trouvé % : C 55,72 H 6,37 N 8,67

Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3320, 3280 (NH) : 1662, 1620 (C=O) ; 1520 (amide I).

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,36 (S-5H) benzyl ; 7,0 (m-1H-échangeable à l'eau lourde) NH-CH_2 ; 5,90 (d-1H) -échangeable à l'eau lourde- NH-CH ; 5,11 (S-2H) CH_2 benzyl 4,23 (m-1H)-CH ; 3,40 (m-2H) NH-CH_2 ; 3,0 (m-2H) S-CH_2 ; 2,30 (S-3H) CO-CH_3 ; 1,36 (d-3H) CH-CH_3.

EXEMPLE 4

BROMHYDRATE DE L-ALANYL N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Préparé selon la méthode générale décrite précédemment

Réactifs utilisés : 1,418 g ($4,3.10^{-3}$ mole) de Z-alanyl-N-(S-acétyl)-cystéamine. 3 ml HBr/AcOH.

On recueille, après lyophilisation dans 8 ml d'eau, 1,19 g de bromhydrate (hygroscopique).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 4,10 (m-1H) CH ; 3,50 (m-2H) N-CH_2 ; 3,10 (m-2H) S-CH_2 ; 2,38 (S-3H) $COCH_3$; 1,50 (d-3H) CH-CH_3.

EXEMPLE 5

Z-γ-AMINOBUTYRYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Réaction de couplage selon la méthode générale

Réactifs utilisés : 9,48 g (0,04 mole) d'acide Z-γ-aminobutyrique (préparé selon R.L. Evans et coll., J. Org. Chem., 1959, 24, 863-4) dans 75 ml d'acétate d'éthyle. 7,95 g (0,02 mole) de t-PNC dans 18 ml d'acétate d'éthyle. 8 ml de TEA. 6,22 g (0,04 mole) de chlorhydrate de S-acétyl-cystéamine dans 50 ml d'acétate d'éthyle.

Le mélange est maintenu basique par addition de 6 ml de TEA. La réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane/méthanol 9,2/0,8) est terminée au bout de 20 heures. Après les différents traitements, on obtient 12,51 g d'une huile rosée qui est chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : dichlorométhane/méthanol 96/4). On recueille 4,4 g de produit. CCM (CH_2Cl_2/MeOH 8 %). R_F : 0,45. Cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole ou de dichlorométhane/éther de pétrole. F = 100-101°C.

Analyse : C_{16} H_{22} N_2 SO_4 (338)

calculé % : C 56,80 H 6,51 N 8,28

trouvé % : C 57,00 H 6,68 N 8,21

Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3320-3290 (NH) ; 1870 ($COCH_3$); 1625 (CONH) ; 1625 (amide I)

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,31 (S-5H) benzyl ; 6,30 et 5,32 (m-2H) NH ; 5,10 (s-2H) CH_2 benzyl ; 3,66 à 2,80 (m-6H) N-CH_2 et S-CH_2; 2,35 (s-3H) CO-CH_3 ; 2,30 à 1,60 (m-4H) CH_2-CH_2 de l'aminobutyryl.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

EXEMPLE 6

BROMHYDRATE DE γ-AMINOBUTYRYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Préparé selon la méthode générale décrite précédemment

Réactifs utilisés : 1,4 g ($4,1.10^{-3}$ mole) de Z-γ-aminobutyryl-N-(S-acétyl)-cystéamine. 3 ml HBr/AcOH.

On recueille après lyophilisation dans 5 ml d'eau, 1 g de bromhydrate hygroscopique.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,47 à 3,17 et 3,17 à 2,76 (2m-6H) N-CH_2 et S-CH_2 ; 2,50 à 1,66 (m-4H) CH_2-CH_2 ; 2,31 (S-3H) $COCH_3$.

EXEMPLE 7

BOC-GLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Méthode générale de couplage utilisant un BOC-AA

Une solution de 9 g (0,05 mole) de BOC-glycine dans 150 ml d'acétate d'éthyle est agitée à 0°C avec 18 g (0,05 mole) de t-PNC (le DCC peut également remplacer le t-PNC) dans 100 ml d'acétate d'éthyle. Au bout de 30 minutes d'agitation à 0°C, on ajoute 7,25 ml de TEA et on laisse agiter à nouveau 15 minutes. Au terme de ce temps on verse dans le mélange 9,1 g (0,05 mole) de chlorhydrate de S-acétyl-cystéamine puis, goutte à goutte, 11 ml de TEA. La réaction suivie par CCM dans un mélange de dichlorométhane/méthanol 9/1 est complète en 5 heures.

Le mélange réactionnel est ensuite lavé à l'eau puis au bicarbonate de sodium aqueux saturé, glacé, à nouveau à l'eau, ensuite avec une solution aqueuse glacée d'acide citrique 1N et enfin à l'eau jusqu'à pH neutre. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec sous vide. On recueille 12,5 g de brut sous forme d'une huile. Ce produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : dichlorométhane/méthanol 9,4/0,6).

CCM : (dichlorométhane/méthanol 9/1) R_F = 0,8. Détection UV, vapeurs d'iode ou pulvérisation d'une solution d'a-

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

cide sulfurique à 10 % dans de l'éthanol suivie du chauffage de la plaque. Rdt. = 40 %. Cristaillise un mélange de dichlorométhane/éther de pétrole. F = 59-60°C.

Analyse : C_{11} H_{20} N_2 SO_4 (276)

calculé % : C 47,82 H 7,24 N 10,14

trouvé % : C 47,65 H 7,26 N 10,04

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,20, 5,45 (2m-2H -échangeable à l'eau lourde-) 2NH ; 4,07 (d-2H) CH_2 gly ; 3,57 (m-2H) $NHCH_2$; 3,15 (m-2H) S-CH_2 ; 2,35 (S-3H) $COCH_3$; 1,47 (S-9H) terbutyl.

EXEMPLE 8

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Méthode générale de déprotection d'un BOC-AA avec formation de son trifluoroacétate correspondant

En protégeant de l'humidité 2,03 g (7.10^{-3} mole) de BOC-glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine sont agités à température ambiante avec 10 ml de TFA et 0,25 ml de thioanisole. La réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 8 % de méthanol) est complète en 4 heures. Le trifluoroacétate est précipité du mélange sous forme huileuse par addition de 150 ml d'éther anhydre et lavé avec 2 x 150 ml d'éther puis séché dans un dessicateur sous vide contenant de l'anhydride phosphorique et de la potasse en plaques. Rendement pratiquement quantitatif. Une haute pureté est obtenue par dissolution du sel dans 10 ml d'eau distillée suivie d'une lyophilisation.

Etant hygroscopiques, ces sels sont en général conservés sous vide ou sous atmosphère d'azote. Néanmoins, pour ce composé il a été possible de le cristalliser dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole 3-1. F = 93-95°C. Spectre IR (KBr) $\bar{\nu}$ cm^{-1} : plusieurs bandes indiquant la présence d'un sel d'amine, 3340, 3220, 3080, 2995, 2960, 2800, 2740, 2620, 2540 ; 1700, 1670 (C=O) ; 1590 (amide).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,70 (S-2H) CH_2 gly ; 3,37 (t-2H) N-CH_2 ; 2,98 (t-2H) S-CH_2 ; 2,29 (S-3H) $COCH_3$.

EXEMPLE 9

BOC-GLYCYL-N-(S-DICHLOROACETYL)-CYSTEAMINE

Réaction de couplage selon la méthode générale des BOC-AA

Réactifs utilisés : 8,69 g (49.10^{-3} mole) de BOC-glycine dans 160 ml d'acétate d'éthyle. 17,3 g (49.10^{-3} mole de t-PNC dans 50 ml d'acétate d'éthyle. 7 ml de TEA.12,34 g (55.10^{-3} mole) de chlorhydrate de S-dichloro-acétyl-cystéamine.

Le mélange est maintenu basique par addition goutte à goutte de 11 ml de TEA et la réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 10 % de méthanol) est complète en 12 heures.

Après les traitements déjà décrits, on obtient 13 g d'un produit huileux qui est chromatographié sur colonne de gel de silice (solvant d'élution : dichlorométhane contenant 3 % de méthanol). Le dérivé attendu est recueilli sous forme d'une huile qui cristallise dans un mélange de dichlorométhane/éther de pétrole 3/1.

CCM (dichlorométhane/méthanol 9/1) R_F = 0,85.

Analyse : $C_{10}\ H_{18}\ N_2\ SO_3\ Cl_2$ (317)

calculé % : C 37,85 H 5,67 N 8,83

trouvé % : C 37,78 H 5,69 N 8,80

Spectre IR (KBr) $\nu\ cm^{-1}$: 3320 (NH) ; 1680 (C=O) ; 1530 (amide I).

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,22 et 5,47 (2m-2H) 2NH; 6,0 (S-1H) $CHCl_2$; 4,05 (d-2H) CH_2 gly ; 3,54 (m-2H) N-CH_2 ; 3,13 (m-2H) S-CH_2 ; 1,45 (S-9H) terbutyl.

EXEMPLE 10

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYL-N-(S-DICHLOROACETYL)-CYSTEAMINE

Méthode générale de déprotection d'un BOC (déjà décrite)

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Réactifs utilisés : 2,2 g (69.10^{-4} mole) de BOC-glycyl-N-(S-dichloroacétyl)-cystéamine. 15 ml de TFA. 0,3 ml de thioanisole.

La réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 10 % de méthanol) est complète en 3 heures. Après les différents lavages, on recueille 1,86 g (Rdt = 75 %) d'une huile incolore que l'on dissout dans 20 ml d'eau distillée et qu'on lyophilise. Ce trifluoroacétate se présente alors sous forme d'une poudre hygroscopique.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 6,15 (S-1H) $CH-Cl_2$; 4,07 (S-2H) CH_2 gly ; de 3,68 à 3,00 (2m-4H) $N-CH_2-CH_2-S$.

EXEMPLE 11

Z-GLYCYL-[N-(BROMO-2-ETHYL)]-AMIDE

Première méthode déjà décrite et qui fait intervenir un Z-AA en présence d'un agent de couplage et d'une amine.

Réactifs utilisés : 5,2 g (24.10^{-3} mole) de Z-glycine dans 50 ml d'acétate d'éthyle. 8,7 g (25.10^{-3} mole) de t-PNC dans 25 ml d'acétate d'éthyle. 5 ml de TEA. 9,83 g (48.10^{-3} mole) de bromhydrate de bromo-2-éthyl-amine (Fluka) que l'on libère dans l'acétate d'éthyle par la TEA avant de l'additionner au mélange réactionnel.

La réaction contrôlée par CCM (dichlorométhane contenant 5 % de méthanol) n'évolue plus au bout de 5 heures. On procède alors aux différents lavages et on obtient, après évaporation puis chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant dichlorométhane contenant 1,5 % de méthanol) 3 g d'une huile jaunâtre qui cristallise dans un mélange de dichlorométhane/éther de pétrole. Rdt = 25 %. F = 111-113°C.

Analyse : $C_{12} H_{15} N_2 BrO_3$ (315)

calculé % : C 45,71 H 4,76 N 8,88

trouvé % : C 45,68 H 4,77 N 8,92

Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3300 (NH); 1680, 1640 (C=O);

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

1530 (amide I).
Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,33 (S-5H) benzyl ; 6,55 et 5,50 (2m-2H-échangeables à l'eau lourde-) 2NH ; 5,10 (S-2H) CH_2 benzyl ; 3,88 (d-2H) CH_2 gly ; 3,65 (t-2H) CH_2Br ; 3,42 (m-2H) N-CH_2.

Deuxième méthode (meilleurs rendements que la précédente)

Elle fait intervenir un Z-aminoacide activé.

Une solution agitée à 0°C de 6,146 g (0,03 mole) de bromhydrate de bromo-2-éthylamine dans 60 ml de DMF est additionnée goutte à goutte de 4,16 ml de TEA. Après l'addition de la base (20 minutes), on ajoute au mélange et toujours à 0°C 6,12 g (0,02 mole) de l'ester-Z-glycyl-O-N-succinimide, puis on laisse revenir à température ambiante. La réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 10 % de méthanol) est complète en 3 heures.

Le solvant est évaporé à sec sous vide et la pâte restante est reprise par 400 ml d'acétate d'éthyle. On procède ensuite aux différents lavages : 300 ml d'eau puis 300 ml de bicarbonate de sodium aqueux saturé et glacé, 300 ml d'eau, 300 ml d'acide chlorhydrique (0,1N) aqueux glacé et enfin à l'eau jusqu'à pH neutre. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec sous vide. On recueille une poudre blanche qui cristallise dans un mélange de dichlorométhane/éther de pétrole. Rdt = 5 g, soit 79 %. Les données physico-chimiques de ce produit sont identiques aux précédentes.

EXEMPLE 12

BROMHYDRATE DE GLYCYL-(N-(BROMO-2-ETHYL))-AMIDE

Sous atmosphère d'azote et en agitant, on traite à température ambiante 3,4 g (10.10^{-3} mole) de Z-glycyl-(N-(bromo-2-éthyl))-amide par 9 ml d'acide acétique glacial saturé d'acide bromhydrique sec. La

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

réaction suivie par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 10 % de méthanol) ne contient plus de Z au bout de 30 minutes. Le bromhydrate est précipité du mélange sous forme d'une pâte par addition de 100 ml d'éther anhydre et le mélange est placé à 0°C durant 12 heures.

Les cristaux formés sont essorés et séchés dans un dessicateur sous vide sur anhydride phosphorique. Rdt = 2,4 g soit 85,7 %. F = 158-160°C.
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3400, 3200 (NH_2-NH); plusieurs bandes entre 3000 et 2580 indiquant la présence d'un sel 1660 (C=O) ; 1570 (amide I).
Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,74 (S-2H) CH_2 gly. ; 3,70 à 3,33 (m-4H) CH_2-CH_2.

EXEMPLE 13

DIBROMHYDRATE DE GLYCYL [N-(ISOTHIOURONIUM-2-ETHYL)]-AMIDE

Une solution de 1,31 g (5.10^{-3} mole) de bromhydrate de glycyl[N-(bromo-2-éthyl)]-amide dans 10 ml d'éthanol absolu est additionnée de 0,380 g (5.10^{-3} mole) de thiourée solubilisée dans 8 ml d'éthanol absolu. Le mélange est porté à ébullition durant 6 heures puis le solvant est concentré au 1/3 de son volume initial. Par refroidissement, il se forme des cristaux qui seront filtrés et recristallisés dans du méthanol. Rdt = 53 %. F = 178-180°C.
Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,80 (S-2H) CH_2 gly. ; 3,66 et 3,40 (2m-4H) CH_2-S et NH-CH_2.

EXEMPLE 14

Z-GLYCYL-N-CYSTEAMINE

(2 méthodes de synthèse)

Première méthode

Une solution de 2,5 g (8.10^{-3} mole) de Z-glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine dans 40 ml de méthanol est traitée par 5 ml de méthylate de sodium (0,263 g de sodium dans 5 ml de méthanol). Le mélange réactionnel

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

est agité à température ambiante durant une heure puis amené à pH 1,2 par de l'acide chlorhydrique concentré. On évapore à sec sous vide la solution et on chromatographie sur gel de silice la pâte obtenue (éluant : dichlorométhane contenant 5 % de méthanol).

On recueille 1,5 g d'une huile incolore qui cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F = 95-96°C. CCM (chloroforme/méthanol 9,2/0,8) R_F = 0,4 (détection à l'UV ou vapeurs d'iode).

Analyse : $C_{12} H_{16} N_2 SO_3$ (268)

calculé % : C 53,73 H 5,97 N 10,45

trouvé % : C 53,70 H 5,86 N 10,35

Spectre de masse : M^+ 268

Spectre IR (KBr) νcm^{-1} : 3320, 3280 (NH) ; 1680, 1650 (C=O) ; 1540 (amide I)

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,36 (S-5H) benzyl ; 6,83 (m-1H) NH (échangeables par addition de D_2O) cystéamine; 5,86 (t-1H) NH (échangeables par addition de D_2O)gly.; 5,15 (S-2H) CH_2 benzyl; 3,86 (d-2H) CH_2 gly. ; 3,40 (m-2H) N-CH_2 ; 2,62 (m-2H) S-CH_2 ; 1,38 (t-1H) SH.

Deuxième méthode

L'action de l'hydrogénosulfure de sodium dans du méthanol sur le Z-glycyl-[N-(bromo-2-étyl)]-amide conduit, après un reflux d'une heure suivi de l'évaporation du solvant et filtration de l'huile obtenue sur colonne de gel de silice, au même composé (données physico-chimiques identiques aux précédentes). Rdt = 74 %.

EXEMPLE 15

DI-Z-DIGLYCYL-N,N'-CYSTAMINE

(3 méthodes de synthèse)

Première méthode : oxydation du Z-gly-N-cystéamine

Une solution agitée à température ambiante de 3,6 g (13.10^{-3} mole) de Z-glycyl-N-cystéamine dans 15 ml d'acide acétique et 15 ml d'eau distillée est

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

additionnée de 20 ml d'acide acétique contenant 250 mg d'iode, ce qui provoque la formation immédiate d'un précipité. Le mélange réactionnel est maintenu 15 minutes à température ambiante puis le précipité est filtré, lavé à l'eau distillée puis séché dans un dessicateur sous vide sur anhydride phosphorique. Recristallise dans un mélange de DMF et d'eau distillée. Les cristaux formés sont essorés puis lavés avec un mélange d'éthanol et d'éther v/v, puis avec de l'éther. Après séchage sous vide sur anhydride phosphorique, on recueille avec un rendement de 40 % le dérivé attendu.
F = 168-170°C. CCM (chloroforme contenant 10 % de méthanol) R_F = 0,6.
Analyse : $C_{24} H_{30} N_4 S_2 O_6$ (534)
calculé % : C 53,93 H 5,61 N 10,48
trouvé % : C 54,14 H 5,73 N 10,50
Spectre de masse : M^+ : 534
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3320 (NH) ; 1680, 1635 (C=O) ; 1535 (amide I)
Spectre de RMN ($DMSOd_6$) δ ppm : 8,12 et 7,44 (2m -échangeable à l'eau lourde-) 2xNH ; 7,38 (S) benzyl ; 5,05 (S) CH_2 benzyl ; 3,62 (d) CH_2 gly. ; 3,50 à 3,10 et 3,10 à 2,58 (2m) N-CH_2-CH_2-S.

<u>Deuxième méthode</u> : <u>réaction entre la Z-glycine et la cystamine faisant intervenir un agent de couplage selon la méthode générale déjà décrite</u>

Réactifs utilisés : 7,2 g (34.10^{-3} mole) de Z-gly dans 150 ml d'acétate d'éthyle. 12 g (34.10^{-3} mole) de t-PNC (le DCC peut remplacer le t-PNC) dans 50 ml d'acétate d'éthyle. 5,1 ml de TEA. 3,04 g (20.10^{-3} mole) de cystamine dans 30 ml d'acétate d'éthyle.

Lors de l'addition de la cystamine un précipité se forme instantanément. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante durant 6 heures. Le précipité qui contient le dérivé attendu et du chlorhydrate

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

de triéthylamine est essoré, lavé avec 100 ml d'acétate d'éthyle et 100 ml d'eau, puis recristallisé à environ 80°C dans du DMF contenant 10 % d'eau distillée. On recueille, après filtration et séchage dans un dessicateur sous vide sur anhydride phosphorique, 3,1 g de di-Z-diglycyl-N,N'-cystamine. Rdt = 34 % (critères physico-chimiques identiques aux précédents).

Troisième méthode : selon une réaction déjà décrite et faisant intervenir un ester activé d'un AA N-protégé et une amine

Réactifs utilisés : 2,252 g (0,01 mole) de di-chlorhydrate de cystamine dans 20 ml de DMF et 1,70 ml de TEA. 3,06 g (0,02 mole) d'ester Z-glycyl-O-N-succinimide dans 30 ml de DMF.

Le mélange réactionnel est agité 6 heures à température ambiante puis évaporé à sec sous vide. La pâte restante est triturée dans de l'acétate d'éthyle, ce qui provoque la formation d'une poudre incolore qui sera filtrée puis lavée à l'eau distillée. Le produit restant cristallise dans les mêmes conditions que précédemment. Après filtration et séchage, on recueille 3,5 g d'un produit ayant des critères physico-chimiques identiques aux précédents.

EXEMPLE 16

DIBROMHYDRATE DE DIGLYCYL-N,N'-CYSTAMINE

Réaction faite selon la méthode générale déjà décrite

Réactifs utilisés : 1,8 g (3.10^{-3} mole) de di-Z-diglycyl-N,N'-cystamine. 12 ml d'acide acétique glacial saturé d'acide bromhydrique, gazeux, sec.

Le mélange est agité 4 heures à température ambiante, puis on lui additionne, sous forte agitation, 100 ml d'éther anhydre ce qui favorise la formation d'une poudre légèrement jaune. Cette poudre est essorée sous vide, puis lavée avec 2 x 50 ml d'éther anhydre et cristallisée dans un mélange de méthanol et d'éther.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

On recueille, après cristallisation et séchage dans un dessicateur sous vide en présence d'anhydride phosphorique et de potasse, 1,203 g (85 %) de dibromhydrate. F = 183-185°C.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,78 (S) CH_2 gly. ; 3,55 (t) N-CH_2 ; 2,83 (t) S-CH_2.

EXEMPLE 17

DI-BOC-DIGLYCYL-N,N'-CYSTAMINE

(2 méthodes)

Première méthode : réaction entre la BOC-glycine et la cystamine faisant intervenir un agent de couplage selon la méthode générale déjà décrite

Réactifs utilisés : 2,98 g (17.10^{-3} mole) de BOC-glycine dans 50 ml d'acétate d'éthyle. 5,92 g (17.10^{-3} mole) de t-PNC (le DCC peut remplacer le t-PNC). 2,4 ml de TEA. 2,6 g (17.10^{-3} mole) de cystamine dans 30 ml d'acétate d'éthyle.

La réaction contrôlée par CCM (éluant : dichlorométhane contenant 5 % de méthanol) est complète en 6 heures. On procède alors aux lavages classiques (eau, bicarbonate aqueux saturé glacé, eau, acide citrique 1N glacé et eau jusqu'à pH neutre). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec sous vide. L'huile recueillie (impure) est chromatographiée sur colonne de gel de silice (gradient d'éluant d'une solution de dichlorométhane/méthanol allant de 2 à 5 % de méthanol). On recueille 3 g (Rdt = 37 %) d'une huile incolore qui cristallise dans l'acétate d'éthyle. F = 97-98°C. R_F = (dichlorométhane contenant 10 % de méthanol) 0,4.

Spectre de RMN ($CDCl_3$) ppm : 7,24 (m-échangeable à l'eau lourde-) NH ; 3,82 (d) CH_2 gly ; 3,55 (m) N-CH_2 ; 2,77 (t) S-CH_2 ; 1,42 (S) ter—butyl.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Deuxième méthode : réaction entre la BOC-glycine activée par un ester et la cystamine

Réactifs utilisés : 5,4 g (24.10^{-3} mole) de dichlorhydrate de cystamine dans 50 ml de DMF. 3,4 ml de TEA. 5,44 g (20.10^{-3} mole) d'ester BOC-glycyl-O-N-succinimide.

Le mélange réactionnel est agité 6 heures à température ambiante et traité comme précédemment après évaporation à sec sous vide et reprise de la pâte obtenue par 500 ml d'acétate d'éthyle. Le produit brut obtenu cristallisé et homogène en CCM ne nécessite pas de chromatographie. Il sera directement recristallisé dans l'acétate d'éthyle. Rdt = 60 %. (données physico-chimiques identiques aux précédentes).

EXEMPLE 18

DI-TRIFLUOROACETATE DE DIGLYCYL-N,N'-CYSTAMINE

Réaction effectuée selon la méthode générale déjà décrite

Réactifs utilisés : 1,7 g ($3,6.10^{-3}$ mole) de di-BOC-diglycyl-N,N'-cystamine. 6 ml de TFA. 0,06 ml de thio-anisole.

Au bout de 3 heures d'agitation à température ambiante, on ne distingue plus de produit de départ sur la CCM. On procède alors aux traitements déjà décrits et on recueille, après lyophilisation, 1,79 g de produit sous forme huileuse (Rdt quantitatif).

Ce sel sera conservé comme les précédents sous atmosphère d'azote ou sous vide.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,61 (S) CH_2 gly. ; 3,38 (t) N-CH_2 ; 2,66 (t) S-CH_2.

EXEMPLE 19

DIBROMHYDRATE DE DIALANYL-N,N'-CYSTAMINE

La réaction est effectuée comme aux exemples 15 et 16 en remplaçant la Z-gly-N-cystéamine par la Z-ala-N-cystéamine, les proportions molaires restant les mêmes.

Ce produit se présente après lyophilisation

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

sous forme d'une huile.
Spectre de RMN (D_{20}) : 4,10 (m) CH ; 3,60 (m) N-CH_2 ; 2,90 (t) S-CH_2 ; 1,52 (d) CH_3.

EXEMPLES 20 et 21

BOC-L-ALANYL-N-(S-ACETYL)-CYSTAMINE

1ère méthode, faisant intervenir l'ester actif O-NSu de la BOC-L-alanine et réalisée selon la méthode générale précédemment décrite.
Réactifs utilisés : 21,5 g (75×10^{-3} mole) de BOC-L-Ala-ONSu, 200 ml de DMF, 11,6 g de chlorhydrate de S-acétylcystéamine, 10,45 ml de TEA (75×10^{-3} mole).

L'huile obtenue après les différents lavages est purifiée sur colonne de silice (éluant = acétone-hexane 4/6). Cristallise dans un mélange d'éther et d'éther de pétrole 1/5. F = 71-73°C. CCM(ACOEt) Ef = 0,5. Rdt = 42,7 %.
Analyse : C_{12} H_{22} N_2 O_4 S (290)
Calculé % : C 49,65 H 7,58 N 9,65
Trouvé % : C 49,61 H 7,60 N 9,62
Spectre de RMN ($CDCl_3$) : 6,84(t-1H)NH-CH_2; 5,25(d-1H) NH-CH; 4,17 (m-1H)CH ala.; 3,43(m-2H)N-CH_2; 3,02(m-2H) S-CH_2; 2,33(S-3H)CO-CH_3; 1,48(S-9H)H terbutyl; 1,35 (d-3H)CH_3 ala.
2ème méthode. Cette méthode est générale pour un couplage entre un aminoacide N-protégé et la cystéamine S-acétylée en présence d'un agent de couplage.

Une solution de 18,9 g (0,1 mole) de BOC-L-Ala. dans 200 ml d'acétate d'éthyle est agitée à 0°C avec 17,4 g (5×10^{-2} mole) de t-PNC préalablement dissous dans 100 ml d'acétate d'éthyle. Au bout de 30 minutes d'agitation à 0°C, on ajoute 14 ml de TEA et on laisse à nouveau agiter 30 minutes. Au terme de ce temps, on additionne au mélange réactionnel 23,3 g (0,15 mole) de chlorhydrate de S-acétylcystéamine puis 21 ml de TEA.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

La réaction est suivie par CCM dans un éluant de dichlorométhane-méthanol (9/1) et le temps nécessaire au couplage est d'environ 6 heures. On procède ensuite aux différents lavages (eau, bicarbonate de sodium aqueux glacé, eau, acide chlorhydrique 1 % glacé, eau jusqu'à neutralité. Après séchage de la phase organique sur sulfate de sodium et évaporation à sec sous vide on recueille 11,7 g d'une huile jaune. Cette huile est ensuite chromatographiée sur colonne de silice avec un éluant constitué de dichlorométhane et d'éther 8/2. On recueille 8,3 g de produit pur que l'on recristallise dans un mélange d'éther et d'éther de pétrole. Les données physico-chimiques de ce composé sont identiques aux précédentes (1ère méthode).

EXEMPLE 22

TRIFLUOROACETATE DE L-ALANYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE : I 106

La déprotection du BOC-L-alanyl-N-(S-acétyl)-cystéamine est réalisée selon la méthode générale.
Réactifs utilisés : 5,7 g (19×10^{-3} mole) de BOC, 9,3 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est complète en 90 minutes. Après les différents lavages à l'éther le trifluoroacétate est repris par de l'eau distillée puis lyophilisé. On recueille 4,45 g d'une gomme.
Spectre de RMN(D_2O) δ ppm : 3,95(q-1H)CH ala.; 3,40 (m-2H)N-CH_2; 2,98(m-2H)S -CH_2 ; 2,31(S-3H)CO-CH_3 ; 1,38 (d-3H)CH_3 ala.

EXEMPLE 23

BOC-GLYCYLTHIO-2-DIMETHYL-1,1-ACETAMIDO-1-ETHANE

Le bromhydrate du thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane nécessaire pour les réactions suivantes est obtenu selon la méthode ci-dessous :

Une solution de 4,56 g (4×10^{-2} mole) de thioacétate de potassium dans 100 ml de DMF est agitée

BUREAU OMPI INTERNATIONAL

à 0°C durant 20 minutes et additionnée de 9,32 g (4×10^{-2} mole) de bromhydrate de bromo-1 méthyl-2 amino-2 propane (J.E. EARLEY et coll., J. Amer. Chem. Soc., 1958, 80, 3458). On laisse revenir la solution à température ambiante et l'agitation est maintenue 12 heures. Le solvant est alors évaporé à sec sous vide à une température inférieure à 60°C. La pâte résiduelle est reprise par de l'acétonitrile ce qui précipite le bromure de potassium et le thioacétate de potassium résiduel qui seront filtrés. Par évaporation des phases organiques on recueille 8,8 g de dérivé thioacétamide sous forme de gomme jaune. L'étude par RMN du proton de cette gomme révèle la présence d'environ 5 % de dérivé bromé de départ; néanmoins elle sera utilisée impure pour la suite des réactions qui nécessitent des purifications par chromatographie ou recristallisation.

Deux méthodes sont possibles pour obtenir le BOC-glycylthio-2 diméthyl-1,1 acétamido-1 éthane :
1ère méthode, faisant intervenir l'ester actif O-NSu de la BOC-glycine et réalisée selon la méthode générale:
Réactifs utilisés : 272 mg (10^{-3} mole) de BOC-gly-ONSu, 10 ml de DMF, 280,1 mg ($1,23 \times 10^{-3}$ mole) de bromhydrate de thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane, 0,171 ml de TEA.

Après les différents traitements, on obtient le dérivé attendu avec un rendement de 40 %. Recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F = 134 - 136°C. CCM : Rf = 0,4 (acétate d'éthyle-éther de pétrole v/v : 8-2).

Analyse : $C_{13} H_{24} N_2 O_4 S$ (304)
Calculé % : C 51,31 H 7,89 N 9,21
Trouvé % : C 51,32 H 7,84 N 9,23
Spectre IR (KBr) cm^{-1} : 3340-3280 (NH); 3100-2980-2940 ($CH-CH_2-CH_3$); 1695-1685-1640 (C = O); 1570-1535 (amide I).

BUREAU INTERNATIONAL

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 5,73(S-1H)NH-$COCH_3$; 5,35(m - 1H)NH gly. ; 4,10(d-2H)CH_2) gly. ; 3,40(S-2H) S-CH_2 ; 1,90(S-3H)CO-CH3 ; 1,48(S-9H)H-terbutyl ; 1,37(S-6H)C-$(CH_3)_2$.

2ème méthode, faisant intervenir la glycine N-protégée et le bromhydrate de thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane en présence d'un agent de couplage (DCC). Réactifs utilisés : 6,75 g (3,86 x 10^{-2} mole) de BOC-gly, 40 ml de DMF, 8,8 g (≃3,8 x 10^{-2} mole) de bromhydrate de thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane, 6,65 ml de DIEA, 7,95 g (3,85 x 10^{2} mole) de DCC, Temps réactionnel : 6 heures.

Après filtration de la DCU formée et évaporation de la DMF, la pâte obtenue est reprise par de l'acétate d'éthyle et on procède aux différents lavages. Après évaporation des phases organiques, on recueille 4,6 g d'un composé qui est en tous points identique au précédent (CCM-IR-RMN).

EXEMPLE 24

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYLTHIO-2 DIMETHYL-1,1 ACETAMIDO--1 ETHANE : I 107

La déprotection du BOC-glycylthio-2 diméthyl-1,1 acétamido-1 éthane est réalisée selon la méthode générale.

Réactifs utilisés : 1,9 g (6,2 x 10^{-3} mole) de BOC, 6 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM (dichlorométhane-méthanol : v/v : 9-1) est totale en 90 minutes et le composé I 107, après avoir été précipité par addition d'éther anhydre, est recristallisé dans un mélange de méthanol et d'éther. On recueille 1,9 g de trifluoro--acétate. F = 165°C.

Spectre IR (KBr) : ν cm^{-1} : 3300-3260 (NH); 3080-3000-2950 (CH-CH_2-CH_3); plusieurs bandes entre 2950 et 2500 en particulier 2740-2660 indiquent la

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

présence du trifluoroacétate; 1690-1645 (C=O) ; 1565 (amide I).

Spectre RMN (D_2O) δ ppm : 4,13(S-2H)CH_2 gly ; 3,50(S-2H)S-CH_2 ; 1,88(S-3H(CO-CH_3 ; 1,29(S-6H)C-$(CH_3)_2$.

EXEMPLE 25

BOC-GLYCYLAMINO-2 DIMETHYL-2,2 THIOACETYL-1 ETHANE

La synthèse de ce composé est réalisée selon la méthode générale faisant intervenir la glycine N-protégée et le bromhydrate de thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane en présence d'un agent de couplage (t-PNC).

Réactifs utilisés : 4,53 g (2,5 g x 10^{-2} mole) de BOC-gly, 50 ml d'acétate d'éthyle, 4,51 g (12,9 x 10^{-3} mole) de t-PNC, 3,61 ml de TEA, 5,9 g (2,59 x 10^{-2} mole) de bromhydrate de thioacétamido-1 méthyl-2 amino-2 propane, 3,61 ml de TEA.

La réaction suivie par CCM est totale en 8 heures. Les lavages classiques sont alors réalisés et après évaporation des phases organiques, on recueille un produit huileux qui est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange d'éluants constitué d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane v/v : 6-4. A nouveau le produit purifié se présente sous forme huileuse (≃ 2 g). CCM(CH_2Cl_2-MeOH v/v : 4-6) Rf = 0,6.

Analyse : $C_{13}H_{24}N_2O_4S$ (304),

Calculé % : C 51,31 H 7,89 N 9,21.

Trouvé % : C 51,29 H 7,90 N 9,24.

Spectre de RMN($CDCl_3$) δ ppm : 6,57(S-1H)NH-C- ; 5,70 (m-1H)NH gly ; 3,66 (m-2H)CH_2 gly ; 3,34(S-2H) S-CH_2 ; 2,33(S-3H) CO-CH_3 ; 1,50 à 1,10(m-15H) C-$(CH_3)_2$ et H-terbutyl.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

EXEMPLE 26

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYLAMINO-2 DIMETHYL-2,2 THIOACETYL-1 ETHANE : I 108

La déprotection du BOC-glycylamino-2 diméthyl-2,2 thioacétyl-1 éthane est réalisée selon la méthode générale :

Réactifs utilisés : 1,9 g ($6,2 \times 10^{-3}$ mole) de BOC-glycylamino-2 diméthyl-2,2 thioacétyl-1 éthane, 6 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est totale en 60 minutes et le composé I 108 ne cristallisant pas après les traitements à l'éther anhydre sera repris par de l'eau distillée puis lyophilisé. On recueille 1,8 g d'une huile légèrement jaune.

Spectre de RMN(D20) δ ppm : 3,50(S-2H)CH_2 gly ; 3,16 (S-2H)S-CH_2 ; 2,19(S-3H)CO-CH_3 ; 1,13(S-6H)C-$(CH_3)_2$.

EXEMPLE 27

BOC-GLYCYLGLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

L'obtention de ce composé est réalisée selon la méthode générale faisant intervenir la glycylglycine N protégée et le chlorhydrate de S-acétylcystéamine en présence du t-PNC comme agent de couplage.

Réactifs utilisés : 7 g ($3,02 \times 10^{-2}$ mole) de BOC-glygly, 70 ml de THF, 10,5 g ($3,02 \times 10^{-2}$ mole) de t-PNC, 4,21 ml ($3,02 \times 10^{-2}$ mole) de TEA, 4,7 g ($3,02 \times 10^{-2}$ mole) de chlorhydrate de S-acétylcystéamine.

La réaction est traitée après 8 heures d'agitation. Le THF est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle et on procède aux différents lavages Après évaporation des phases organiques, on recueille 12 g d'un mélange huileux impur en CCM. Le produit de couplage est isolé pur, après deux chromatographies sur colonne de gel de silice en utilisant de l'acétate d'éthyle comme éluant. On recueille 2,5 g (24,8 %) d'une huile qui cristallise

BAD ORIGINAL

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F=109-111°C. CCM(CH_2Cl_2-MeOH v/v : 9:1) Rf = 0,3.
Analyse : C_{13} H_{23} N_3 O_5 S (333),
Calculé % : C 46,84 H 6,90 N 12,61
Trouvé % : C 46,84 H 6,92 N 12,58.
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3290 (NH) ; 3070-2980-2950 ($CH-CH_2-CH_3$); 1680-1640 (C=O); 1550 (amide I).
Spectre de RMN($CDCl_3$) δ ppm : 7,33 (m-2H)2NH gly ; 5,80(m-1H) NH(cystéamine); 3,88(dd-4H)CH_2 gly.; 3,35(m-2H)N-CH_2(cystéamine); 2,98(m-2H)S-CH_2 ; 2,34(S-3H)CO-CH_3 ; 1,44(S-9H)H-terbutyl.

EXEMPLE 28

TRIFLUORACETATE DE GLYCYLGLYCYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE I 109

La déprotection du BOC-glycylglycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine est réalisée selon la méthode générale :
Réactifs utilisés : 1,05 g ($3,15 \times 10^{-3}$ mole) de BOC, 6 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est complète en 90 minutes et le composé I 109, après avoir été précipité par addition d'éther anhydre, est recristallisé dans un mélange de méthanol et d'éther. On recueille 1,100 g de trifluoroacétate, F = 117-118°C.
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3300(NH); 3130-3090-2960 ($CH-CH_2-CH_3$) ; plusieurs bandes entre 2980 et 2350 en particulier 2880-2760-2600-2370 indiquent la présence du trifluoroacétate; 1680-1650 (C=O); 1540 (amide I).
Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,78 et 3,75 (2S-4H) CH_2 gly ; 3,26 (m-2H) N-CH_2 ; 2,90 (m-2H) S-CH_2 ; 2,23 (S-3H) CO-CH_3.

EXEMPLE 29

BOC-GLYCYLAMINO-3 BROMO-1 PROPANOL-2

Il est obtenu selon la méthode générale et il fait intervenir l'ester O-NSu de la glycine N proté-

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

gée ainsi que le bromhydrate de bromo-1 amino-3 propanol-2 décrit par D.M. BALL et Coll., J. Org. Chem. 1963, 28, 1580.

Réactifs utilisés : 9,21 g ($3,38 \times 10^{-2}$ mole) de BOC-gly-ONSu, 100 ml de DMF, 7,95 g ($3,38 \times 10^{-2}$ mole) de bromhydrate de bromo-1 amino-3 propanol-2, 4,75 ml ($3,38 \times 10^{-2}$ mole) de TEA.

La réaction suivie par CCM est complète en 6 heures. Le DMF est alors évaporé à sec sous vide. La gomme restante est reprise par de l'acétate d'éthyle et on procède aux différents lavages. Après évaporation des solvants, on recueille 6,20 g d'une huile qui recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F=94-96°C. CCM(CH_2Cl_2-MeOH v/v : 9-1) Rf = 0,5 (détection aux vapeurs d'iode ou chauffage de la plaque-température > 200°C).

Analyse : $C_{10} H_{19} N_2 BrO_4$ (311)

Calculé % : C 38,58 H 6,10 N 9,00

Trouvé % : C 38,61 H 6,08 N 9,03

Spectre IR(KBr) ν cm^{-1} : 3380(NH-OH) bande large ; 2980-2940(CH-CH_2) ; 1690 (C=O); 1525 (amide I).

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 7,10 et 5,66 (2m-2H), 2NH ; 4,45 à 3,30 (3m-8H)CH_2 gly, CH_2-CH, CH-OH, CH_2Br; 1,47(S-9H)H-terbutyl.

EXEMPLE 30

BOC-GLYCYLAMINO-3 ACETOXY-2 THIOACETYL-1 PROPANE et DI-(BOC-GLYCYLAMINO-3 ACETOXY-2 PROPYL)-1,2 DISULFURE

Une solution agitée de 1,01 g ($8,8 \times 10^{-3}$ mole) de thioacétate de potassium dans 20 ml de DMF est agitée à 0°C durant 15 minutes et additionnée de 2,10 g ($6,7 \times 10^{-3}$ mole) de BOC-glycylamino-3 bromo-1 propanol-2. Le mélange réactionnel est maintenu à 0°C durant 2 heures puis abandonné 10 heures à la température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé à sec sous vide et la pâte restante est coévaporée avec de

BAD ORIGINAL

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

l'éther de pétrole. Par CCM avec une double migration dans l'éther, on note la présence de plusieurs spots en particulier les deux produits attendus et un troisième qui est positif au test du nitroprussiate de sodium. Il s'agit donc d'un dérivé contenant un thiol. Les trois produits étant difficilement séparables par chromatographie sur colonne de silice, nous avons soumis toute la pâte obtenue précédemment à une oxydation dans du méthanol en présence d'iode et d'acétate de sodium. L'iode est additionné jusqu'à coloration persistante de la solution. La CCM de ce milieu ne montre plus que deux spots négatifs au test des SH.

Le mélange est alors évaporé à sec sous vide, repris par de l'acétate d'éthyle et lavé au thiosulfate de sodium puis à l'eau. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de sodium et évaporées à sec sous vide. On recueille environ 2 g d'une huile incolore qui sera chromatographiée sur colonne de silice avec un éluant constitué d'un mélange de dichlorométhane et d'éther v/v : 6-4.

Le composé le moins polaire en CCM (éluant CH_2Cl_2-MeOH v/v : 9-1) Rf = 0,8 a été identifié comme étant le BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 thioacétyl-1 propane. Isolé sous forme huileuse, ce produit cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'hexane. F = 74-76°C.

Analyse : $C_{14}\ H_{24}\ N_2\ O_6\ S$ (348)

Calculé % : C 48,27 H 6,89 N 8,04

Trouvé % : C 48,29 H 6,85 N 8,07

Spectre IR(KBr) $\nu\ cm^{-1}$: 3330-3260(NH) ; 3080-2980-2940 ($CH-CH_2-CH_3$) ; 1740-1690-1650 (C = O); 1520-1510 (amide I).

Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 6,93 et 5,53 (2m-2H)2NH ; 4,98(m-1H)CH ; 3,80(d-2H)CH_2 gly. ; 3,48(m-2H)N-CH_2 ; 3,13(m-2H)S-CH_2 ; 2,33(S-3H)S-$COCH_3$; 2,07(S-3H)O-CO-CH_3 ;

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

1,48(S-9H)H-terbutyl.

Le composé le plus polaire en CCM (même éluant que précédemment) a un Rf de 0,75 et a été identifié comme étant le di-(BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 propyl)-1,2 disulfure. Ce produit a été obtenu sous forme huileuse.

Analyse : C_{24} H_{42} N_4 O_{10} S_2 (610)
Calculé % : C 47,21 H 6,88 N 9,18
Trouvé % : C 47,23 H 6,84 N 9,22

Spectre de RMN($CDCl_3$) δ ppm : 7,12 et 5,80 (2m-4H)NH; 5,16(m-2H)CH ; 3,80(d-4H)CH_2 gly.; 3,56(m-4H)N-CH_2 ; 2,93(d-4H)S-CH_2 ; 2,06(S-6H)O-CO-CH_3 ; 1,33(S-18H)H-terbutyl.

Un échantillon du dérivé présentant un thiol libre a pu être isolé du mélange, avant l'oxydation par l'iode, et identifié. Il s'agit bien du BOC-glycyl--amino-3 acétoxy-2 propanethiol-1.

Spectre de RMN($CDCl_3$) δ ppm : 7,13 et 5,84 (2m-2H)NH ; 4,90(m-1H)CH ; 3,80(d-2H)CH_2 gly.; 3,59(m-2H)N-CH_2 ; 2,72 (m-2H)S-CH_2 ; 2,06(S-3H)O-CO-CH_3 ; 1,70 (t-1H)SH ; 1,46(S-9H)H-terbutyl.

EXEMPLE 31

DI-TRIFLUOROACETATE DE DI-(GLYCYLAMINO-3 ACETOXY-2 PROPYL)-1,2 DISULFURE : I 110

La déprotection du di-(BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 propyl)-1,2 disulfure est réalisée selon la méthode générale.

Réactifs utilisés : 940 mg ($1,5 \times 10^{-3}$ moles) de di-(BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 propyl)-1,2 disulfure; 8 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est totale en 90 minutes et le composé ne cristallisant pas après les lavages à l'éther anhydre sera lyophilisé. On recueille 859,4 mg d'une huile (Rdt = 87,4 %).

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 4,96(m-2H)CH; 3,60(S-4H)

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

CH_2 gly.; 3,33(m-4H)N-CH_2 ; 2,74(d-4H)S-CH_2 ; 1,88(S-6H)O-CO-CH_3.

EXEMPLE 32

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYLAMINO-3 ACETOXY-2 THIOACETYL-1 PROPANE : I 111

La déprotection du BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 thioacétyl-1 propane est réalisée selon la méthode générale.

Réactifs utilisés : 1,4 g (4×10^{-3} mole) de BOC-glycylamino-3 acétoxy-2 thioacétyl-1 propane, 6 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est totale en 90 minutes et le composé I 111 ne cristallisant pas après les lavages à l'éther anhydre sera lyophilisé. On recueille 1,383 g d'une huile (Rdt = 95,5 %).

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 5,01(m-1H)CH ; 3,80(S-2H) CH_2 gly.; 3,49(m-2H)N-CH_2 ; 3,13(m-2H)S-CH_2 ; 2,28(S-3H)S-$COCH_3$; 2,08(S-3H)O-CO-CH_3.

EXEMPLE 33

BOC-GLYCYL-S-(N-ACETYL)-CYSTEAMINE

Une solution contenant 7 g (4×10^{-2} mole) de BOC-glycine dans 60 ml de DMF est agitée et refroidie à 0°C puis additionnée de 8,24 g (4×10^{-2} mole) de DCC. On verse ensuite sur le mélange à 0°C 6,22 g (4×10^{-2} mole) de chlorhydrate de S-acétylcystéamine puis goutte à goutte une solution de 5,56 ml de TEA dans 20 ml de DMF. Lorsque la TEA est additionnée, on laisse le mélange revenir à la température ambiante et on poursuit l'agitation 12 heures. Le précipité de DCU formé est essoré et le filtrat est concentré à sec sous vide. La pâte résiduelle est reprise par de l'acétate d'éthyle et on procède aux différents lavages de la solution : eau; bicarbonate de sodium aqueux saturé et glacé; eau; acide citrique aqueux 1N; eau jusqu'à neutralité. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

de sodium et évaporées à sec sous vide. On recueille une huile impure en CCM (éluant : acétate d'éthyle). Deux spots à Rf 0,4 et 0,25 sont prédominants. Les deux produits séparés par chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2 contenant 2 % de méthanol). Le composé le moins polaire (Rf 0,4), 3 g, a été isolé et identifié au BOC-glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine.

Le composé le plus polaire (Rf 0,25) a été recueilli sous forme d'une huile (2,55 g) qui recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F = 120°C.

Analyse : $C_{11}\ H_{20}\ N_2\ S\ O_4$ (276)

Calculé % : C 47,82 H 7,24 N 10,14

Trouvé % : C 47,79 H 7,26 N 10,16

Spectre IR(KBr) ν cm^{-1} : 3340-3260(NH); 3060-3000-2960 ($CH-CH_2-CH_3$) ; 1695-1660 (C = O); 1550 (amide I).

Spectre RMN($CDCl_3$) δ ppm : 7,22 et 6,28 (2m-2H)NH ; 4,14(d-2H)CH_2 gly.; 3,48(m-2H)N-CH_2 ; 3,26 (m-2H)-S-CH_2; 2,10(S-3H)CO-CH_3 ; 1,58 (S-9H)H-terbutyl.

EXEMPLE 34

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYL-S-(N-ACETYL)-CYSTEAMINE : I 114

La déprotection du BOC-glycyl-S-(N-acétyl)-cystéamine est réalisée selon la méthode générale.

Réactifs utilisés : 2,072 g ($7,5 \times 10^{-3}$ mole) de BOC. 3 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM est complète en 2 heures et le composé I 114, après avoir été lavé avec de l'éther anhydre, est repris par de l'eau distillée puis lyophilisé. On recueille 2,1 g d'une huile jaune. Rdt = 96 %.

Spectre de RMN(D_2O) δ ppm : 4,12(S-2H)CH_2 gly. ; de 3,58 à 2,83 (m-4H)S-CH_2-CH_2-N ; 1,92 (S-3H)CO-CH_3.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

EXEMPLE 35

DI-BOC-DI-GLYCYLGLYCYL-N,N'-CYSTAMINE

Des trois méthodes envisagées et réalisées, sur le schéma 5 nous ne décrirons que celle nous ayant fourni le composé avec les meilleurs rendements selon la méthode générale qui fait intervenir un ester activé d'un dipeptide et la cystamine.

Réactifs utilisés : 1,194 g ($5,3 \times 10^{-3}$ mole) de dichlorhydrate de cystamine dans 40 ml de DMF et 1,48 ml de TEA. 3,5 g d'ester Boc-glycylglycyl-O-N-succinimide.

Le mélange réactionnel est agité 12 heures à température ambiante puis évaporé à sec sous vide. La pâte restante est reprise par de l'acétate d'éthyle. On procède alors aux lavages classiques (eau, bicarbonate de sodium aqueux saturé glacé, eau, HCl 1 %, eau jusqu'à pH neutre). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec sous vide. On recueille 2,3 g d'une poudre incolore - qui recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole. F = 118-120°C. RF = (Butanol-éthanol-eau-v/v/v : 2-1-1.) 0,8.

Analyse : $C_{22}\ H_{40}\ N_6\ S_2\ O_8$ (580)

Calculé % : C 45,51 H 6,89 N 14,48

Trouvé % : C 45,49 H 6,91 N 14,48

Spectre de RMN (DMSO) δ ppm : 7,40 et 5,80 (2m-6H) 6NH; 4,0 (2d-8H)CH_2 gly ; 3,53 (m-4H) N-CH_2 ;2,95 (m-4H) S-CH_2 ; 1,44 (S-18H) terbutyl.

EXEMPLE 36

DI-TRIFLUOROACETATE DE DI-GLYCYLGLYCYL N,N'-CYSTAMINE : I 116

Réaction effectuée selon la méthode générale déjà décrite.

Réactifs utilisés : 2,3 g ($3,9 \times 10^{-3}$ mole) de di-Boc-di-glycylglycyl-N,N'-cystamine. 6 ml de TFA.

Au bout de 2 heures d'agitation à température

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

ambiante, on ne distingue plus de produit de départ sur la CCM. On procède alors aux traitements déjà décrits et on recueille, après lyophilisation, 2,22 g de produit sous forme huileuse (Rdt = 93,6 %).

Ce sel sera conservé sous atmosphère d'azote ou sous vide.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,95 et 3,86 (2S-8H) CH_2 gly ; 3,51 (m-4H) N-CH_2 ; 2,93 (m-4H) S-CH_2.

EXEMPLE 37

BOC-GLYCYL-[N-(METHYL-2 ACETYLMERCAPTO-2 ETHYL)] AMIDE

Une solution agitée de 6,8 g (25×10^{-3} mole) d'ester Boc-glycyl-O-N-succinimide dans 100 ml d'acéto-nitrile est refroidie à 0°C et additionnée de 4,23 g (25×10^{-3} mole) de chlorhydrate de méthyl-2 acétyl-mercapto-2 éthylamine puis goutte à goutte d'une solution de 3,48 ml (25×10^{-3} mole) de triéthylamine dans 10 ml d'acétonitrile. La température réactionnelle est maintenue à 0°C durant toute l'addition de la TEA puis on laisse le mélange revenir à la température ambiante et on prolonge l'agitation durant 8 heures. La solution est alors évaporée à sec sous vide. Le résidu blanc est repris par du dichlorométhane et on procède aux différents lavages (eau, bicarbonate de sodium aqueux saturé et glacé, eau, acide citrique 10 % dans l'eau, eau) jusqu'à pH neutre. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de sodium et évaporées à sec sous vide. On obtient 7,6 g de produit brut qui sera chromatographié sur colonne de silicagel en utilisant un éluant constitué d'un mélange de benzène et d'acétate d'éthyle v/v : 7-3. On recueille après cristallisation dans un mélange d'éther et d'hexane ou d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole 1,38 g de cristaux incolores CCM (Benzène-acétate d'éthyle 5-5). RF = 0,3. Rdt = 19 %. F = 70-73°C.

Analyse : $C_{12} H_{22} N_2 S O_4$ (290)

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Calculé % : C 49,65 H 7,58 N 9,65
Trouvé % : C 49,63 H 7,54 N 9,62
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3360,3320 (NH) ; 2990,2923 ($CH-CH_2$) ; 1685,1660 (C=O) ; 1525 (amide I).
Spectre de RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 6,70 et 5,40 (2m-2H) 2NH; 3,78 (d-2H) CH_2 gly ; 3,43 (m-3H) $N-CH_2-CH$; 2,33 (S-3H) $COCH_3$; 1,46 (S-9H) terbutyl ; 1,29 (d-3H) CH_3.

EXEMPLE 38

TRIFLUOROACETATE DE GLYCYL-N-[(METHYL-2 ACETYLMERCAPTO-2 ETHYL)]AMIDE : I 118

Méthode générale de déprotection d'un BOC (déjà décrite).
Réactifs utilisés : 1,38 g (47 x 10^{-3} mole) de BOC-glycyl-N-[(méthyl-2 acétylmercapto-2 éthyl)]-amide.
7 ml de TFA.

La réaction suivie par CCM jusqu'à disparition du Boc est totale en 2 heures. Le mélange réactionnel est ensuite évaporé à sec sous vide et l'huile obtenue est reprise par 50 ml d'eau distillée. La phase aqueuse lavée au dichlorométhane (3 x 50 ml) puis lyophilisée fournit 1,38 g de trifluoroacétate sous forme huileuse et hygroscopique. Rdt = 97,18 %.
Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,69 (S-2H) CH_2 gly ; de 3,65 à 3,15 (2m-3H) $N-CH_2-CH$; 2,28 (S-3H) $COCH_3$; 1,20 (d-3H) CH_3.

EXEMPLE 39

BOC-SARCOSYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE

Réaction entre la BOC-Sarcosine et la S-acétyl-cystéamine faisant intervenir un agent de couplage selon la méthode générale déjà décrite.
Réactifs utilisés : 9,58 g (50,7 x 10^{-3} mole) de BOC-Sarcosine dans 70 ml d'acétonitrile, 8,82 g (25,3 x 10^{-3} mole) de t-PNC dans 90 ml d'acétonitrile. 7,08 ml (50,7 x 10^{-3} mole) de TEA. Le mélange est agité à 0°C durant 15 minutes et additionné de 8,97 g (57 x 10^{-3} mole) de chlorhydrate de S-acétyl-cystéamine et d'une solution de 10,86 ml (77 x 10^{-3} mole) de TEA dans 30 ml

BUREAU CMPI

d'acétonitrile.

Le mélange réactionnel est agité 12 heures à température ambiante puis évaporé à sec sous vide. Le résidu est repris par 400 ml de dichlorométhane et on procède aux différents lavages (eau, bicarbonate de sodium aqueux saturé et glacé, eau, acide citrique 10 % dans l'eau, eau jusqu'à pH neutre). La phase organique séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec sous vide fournit 11,9 g de produit brut qui sera chromatographié sur colonne de silicagel en utilisant un éluant constitué d'un mélange d'acétate d'éthyle contenant 20 % d'éther de pétrole. On recueille après cristallisation dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole 5,52 g de cristaux incolores. CCM (Acétate d'éthyle contenant 20 % d'éther de pétrole). RF = 0,5.
Rdt = 37,6 %. F = 77-79°C.
Analyse : $C_{12} H_{22} N_2 S O_4$ (290)
Calculé % : C 49,65 H 7,58 N 9,65
Trouvé % : C 49,62 H 7,61 N 9,67
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} = 3270 (NH) ; 3080,2980,2930 ($CH-CH_2$) ; 1700,1655 (C=O) ; 1560 (Amide).
Spectre RMN ($CDCl_3$) δ ppm : 6,50 (m-1H) NH ; 3,88 (S-2H) CH_2 gly ; 3,47 (m-2H) $N-CH_2$; 3,04 (m-2H) $S-CH_2$; 2,93 (S-3H) $N-CH_3$; 2,36 (S-3H) $COCH_3$; 1,50 (S-9H) terbutyl.

EXEMPLE 40

TRIFLUOROACETATE DE SARCOSYL-N-(S-ACETYL)-CYSTEAMINE : I 123

Méthode générale de déprotection d'un BOC (déjà décrite).
Réactifs utilisés : 2 g ($6,8 \times 10^{-3}$ mole) de BOC-Sarcosyl-N-(S-acétyl)-cystéamine. 7 ml de TFA. La réaction suivie par CCM est complète en 2 heures. Après les différents lavages on recueille 1,87 g de poudre incolore.
Rdt = 89,6 %. F = 91-93°C.
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : plusieurs bandes indiquant la présence d'un sel d'amine, 3240, 3090, 2975, 2840, 2620,

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

2260 ; 1700, 1670 (C=O) ; 1580 (amide).
Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,83 (S-2H) CH_2 gly ; 3,47 (m-2H) N-CH_2 ; 3,06 (m-2H) S-CH_2 ; 2,75 (S-3H) N-CH_3 ; 2,39 (S-3H) COCH_3.

EXEMPLE 41

DI-BOC-SARCOSYL-N,N'-CYSTAMINE

Réaction effectuée selon la méthode générale déjà décrite qui fait intervenir un ester activé de la BOC-Sarcosine et la cystamine.

Réactifs utilisés : 3,15 g (14×10^{-3} mole) de dichlorhydrate de cystamine dans 50 ml de DMF et 3,9 ml de TEA. 7,15 g (25×10^{-3} mole) d'ester BOC-Sarcosyl-O-N-Succinimide.

Le mélange réactionnel est agité 12 heures à température ambiante puis évaporé à sec sous vide. La pâte restante est reprise par 200 ml d'eau distillée et le précipité blanc formé est essoré puis cristallisé dans un mélange d'acétate d'éthyle de méthanol et d'éther de pétrole. On recueille 4,5 g du composé attendu. Rdt = 65 %. F = 178-180°C. CCM (dichlorométhane contenant 5 % de méthanol). RF = 0,3.
Analyse : $C_{20}\ H_{38}\ N_4\ S_2\ O_6$ (494)
Calculé % : C 48,58 H 7,69 N 11,33
Trouvé % : C 48,54 H 7,66 N 11,35
Spectre IR (KBr) ν cm^{-1} : 3270 (NH) ; 3080,2980,2930 (CH-CH_2 ; 1700,1660 (C=O) ; 1560 (Amide).
Spectre RMN (DMSO) δ ppm : 8,15 (t-2H) NH ; 3,84 (S-4H) CH_2 gly ; 3,42 (m-4H) N-CH_2 ; 2,86 (m-4H) S-CH_2 ; 2,86 (S-6H) CH_3 ; 1,42 (S-18H) terbutyl.

EXEMPLE 42

DI-TRIFLUOROACETATE DE DI-SARCOSYL-N,N'-CYSTAMINE : I 124

Méthode générale de déprotection d'un BOC (déjà décrite).
Réactifs utilisés : 2 g (4×10^{-3} mole) de Di-BOC-sarcosyl-N,N'-cystamine. 7 ml de TFA. La réaction suivie

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

par CCM est complète en 1 heure. Après les différents lavages on recueille 1,96 g de poudre incolore et hygroscopique. Rdt = 93,8 %.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,83 (S-4H) CH_2 gly ; 3,52 (t-4H) N-CH_2 ; 2,83 (t-4H) S-CH_2 ; 2,75 (S-6H) CH_3.

EXEMPLE 43

ACIDE (GLYCYLAMINO-2)-ETHYLTHIOSULFURIQUE : I 125

Une solution, contenant 1,31 g (5×10^{-3} mole) de bromhydrate de glycyl[N-(bromo-2-éthyl)]-amide ; 1,24 g (5×10^{-3} mole) de thiosulfate de sodium 5 H_2O ; 0,68 g (5×10^{-3} mole) d'acétate de sodium 3 H_2O ; et 6 ml d'eau distillée; est chauffée à 90-95°C jusqu'à disparition du bromure de départ. La réaction est suivie par CCM (butanol-éthanol-eau v.v.v : 2-1-1). RF du bromure 0,7. (Dans le même éluant RF du composé attendu 0,15). Le temps réactionnel est d'environ 2 heures. Par addition d'éthanol il y a apparition d'une huile. Le surnageant est décanté, l'huile est redissoute dans le minimum d'eau distillée et à nouveau on additionne de l'éthanol. Cette opération de lavage de l'huile est répétée 5 fois. La phase huileuse obtenue est alors reprise par de l'eau distillée et décolorée par du noir animal. La solution incolore est ensuite lyophilisée et fournit une poudre hygroscopique qui contient encore du thiosulfate de sodium.

Le produit pur sera isolé après filtration sur colonne de silicagel en utilisant un gradiant d'éluants constitué d'acétonitrile et d'eau. Rdt = 40 %. Ce composé sera conservé sous atmosphère d'azote.

Spectre de RMN (D_2O) : 3,85 (S-2H) CH_2 gly ; 3,63 (m-2H) N-CH_2 : 3,25 (m-2H) SCH_2.

EXEMPLE 44

GLYCYLAMINO-2 S-ETHYLPHOSPHOROTHIOATE DE SODIUM : I 126

Dans 9,4 ml d'eau agitée à 15-20°C on additionne en maintenant cette température 1,714 g (9,52 x

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

10^{-3} mole) de phosphorothioate de sodium*. On obtient une suspension blanche. On ajoute ensuite 2,5 g (9,54 x 10^{-3} mole) de bromhydrate de glycyl[N-(bromo-2 éthyl)]-amide. Lorsque le mélange est devenu homogène (1 heure), on additionne goutte à goutte, en maintenant toujours la température entre 15 et 20°C, 4,7 ml de DMF. L'agitation à température ambiante est poursuivie durant 1 h 30 puis la solution est versée sur 60 ml de méthanol et placée au réfrigérateur durant 12 heures. Le précipité formé est essoré, repris par 10 ml d'eau et versé sur 60 ml de méthanol. La solution est maintenue à 0°C durant 2 heures et les cristaux du dérivé monosodé de l'acide S-(glycylamino-2) éthyl phosphorothioïque sont essorés et séchés sous vide dans un dessicateur contenant de l'anhydre phosphorique. On recueille environ 1,4 g de sel très hygroscopique.

Spectre de RMN (D_2O) δ ppm : 3,86 (S-2H) CH_2 gly ; 3,40 et 2,80 (2m-4H) N-CH_2-CH_2-S.

EXEMPLE 45

DI-TRIFLUOROACETATE DE DI-ALANYL-N,N'-CYSTAMINE

La réaction est effectuée comme aux exemples 17 et 18 en remplaçant la glycine par l'alanine, les proportions molaires restant les mêmes. Ce produit se présente après lyophilisation sous forme d'une huile.

Spectre de RMN (D_{20}) : 3,98 (m) CH ; 3,48 (m) N-CH_2 ; 2,76(t) S-CH_2 ; 1,46 (d) CH_3.

EXEMPLE 46

ACTIVITE RADIOPROTECTRICE

Cette étude d'activité radioprotectrice a été réalisée selon une technique décrite par M. Fatome et coll., Eur. J. Med. Chem., 1977, 12, (1), 93. Les substances ont été injectées par voie intra-péritonéale

* Le phosphorothioate trisodé est préparé selon la méthode de S. AKERFELOT ; Acta. Chem. Scand., 1960, 14, 1980-84.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

aux doses indiquées sur le tableau I, 15 minutes avant une irradiation à la DL_{100}/30 jours. Cette dose étant égale à 950 Rad.

Des études plus complètes sont rapportées dans le tableau II.

TABLEAU I

Taux de survie au 30ème jour

(injection des drogues 15' avant irradiation à 900 ou 950 Rad)

Composé de l'exemple	DL_{50} (mg/kg)	Doses (mg/kg i.p.)	% de survie
2	1 500	750	100
		187	67
4	1 500	750	80
		188	40
6	800	400	60
8	1 200	750	93
10	800	800	40
16	1 500	750	100
18	1 200	750	100
19	800	400	100
45	1 200	600	100

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

TABLEAU I (Suite)

Taux de survie au 30ème jour

(injection des drogues 15' avant irradiation à 900 ou 950 Rad)

Composé de l'exemple	DL_{50} (mg/kg)	Doses (mg/kg i.p.)	% de survie
22	1 250	625	100
24	1 500	750	70
26	1 200	750	60
28	> 2 000	1 000	100
31	750	375	60
32	1 500	1 000	100
34	1 000	500	70
36	2 000	1 000	30

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

TABLEAU II

Composé de l'exemple	Formules	DL 50 mg/kg (i.p.)	Doses administrées mg/kg (i.p.)	Temps d'administration avant irradiation	Doses de rayonnement (Rad.)	% de survie à 30 jours
8	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-S-COCH_3$	1200	750 187 750	15' 15' 15'	900 900 1100	93 0 50
18	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-S$ (2) TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-S$	1250	750 187 750 750 1000 750 187 94 47	15' 15' 2 heures 15' 15' 15' 15' 15' 15'	900 900 900 1100 1300 1300 1100 900 900	100 90 60 100 0 10 0 30 0
	TFA, $H_2N-CH(CH_3)-CO-NH-CH_2-CH_2-S$ (2) TFA, $H_2N-CH(CH_3)-CO-NH-CH_2-CH_2-S$	1200	600 150 600 600	15' 15' 2 heures 15'	900 900 900 1100	100 20 50 50

BUREAU OMPI INTERNATIONAL

TABLEAU II (Suite)

N° de l'ex.	Formules	DL 50 mg/kg (i.p.)	Doses administrées mg/kg (i.p.)	Temps d'administration avant irradiation	Doses de rayonnement (Rad)	% de survie à 30 jours
22	TFA, $H_2N-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{\vert}{CH}}-CO-NH-CH_2-CH_2-S-COCH_3$	1250	625 625 625 156	15' 15' 2 heures 15'	900 1100 900 900	100 50 10 0
24	TFA, $H_2N-CH_2-CO-S-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle CH_3}{\overset{\vert}{\underset{\vert}{C}}}}-NH-COCH_3$	1500	750 750 750	15' 2 heures 15'	900 900 1100	70 50 13
26	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle CH_3}{\overset{\vert}{\underset{\vert}{C}}}}-CH_2-S-COCH_3$	1200	750 187 750 750	15' 15' 2 heures 15'	900 900 900 1100	60 40 70 0
28	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CO-NH(CH_2)_2S-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{\vert}{CO}}$	>2000	1000 1000 1500	15' 15' 15'	900 1100 1100	100 0 100

BUREAU INTERNATIONAL

TABLEAU II (Suite)

N° de l'ex.	Formules	DL 50 mg/kg (i.p.)	Doses administrées mg/kg (i.p.)	Temps d'administration avant irradiation	Doses de rayonnement (Rad)	% de survie à 30 jours
31	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH(OCOCH_3)-CH_2-S$	750	375	15'	900	60
			93,7	15'	900	0
	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH(OCOCH_3)-CH_2-S$		375	2 heures	900	0
32	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CH(OCOCH_3)-CH_2-S-CO-CH_3$	1500	1000	15'	900	100
			250	15'	900	70
			1000	15'	1100	80
34	TFA, $H_2N-CH_2-CO-S-CH_2-CH_2-NH-COCH_3$	1000	500	15'	950	70
			125	15'	950	20
36	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-S$	2000	1000	15'	950	30
	TFA, $H_2N-CH_2-CO-NH-CH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-S$		250	15'	950	10

BUREAU INTERNATIONAL OMPI WIPO

Plusieurs remarques peuvent être faites sur ces résultats.

Tout d'abord, les deux homologues supérieurs I 106 (exemple 22) et I 105 (exemple 45) des I 102 (exemple 8) et I 103 (exemple 18) décrits présentent une bonne radioprotection pour une faible toxicité. Cependant, le remplacement de la glycine par la L-alanine n'apporte pas de grands changements quant à l'activité radioprotectrice, l'amino-acide le meilleur restant toutefois la glycine.

Les dérivés I 107 (exemple 24) et I 108 (exemple 28) comportent une glycine pour les raisons qui ont été invoquées et une cystéamine diméthylée en position α de l'atome d'azote choisie par analogie avec un thio-sulfate décrit par Piper et coll. : $H_2N-C(CH_3)_2-CH_2-S-SO_3H$ (J.R. Piper et coll., J. Med. Chem. 1966, 9, 911), composé présentant une bonne protection à 600 mg/kg. Ces deux produits, acétylés en bout de chaîne, montrent une activité radioprotectrice; ceci était prévisible pour le I 108 mais un fait nouveau est apparu car le I 107 est un S-glycyl au lieu d'un S-acétyle et cette fois l'amine terminale de la cystéamine comporte le groupement acétyle. L'activité étant liée à la libération in vivo du thiol, il doit donc y avoir dans ce cas une libération du groupement glycyl.

La molécule I 109 (exemple 28) est particulièrement intéressante. C'est la première à avoir une séquence dipeptidique sur la cystéamine S-acétylée. En utilisant un dipeptide (gly-gly) on souhaitait diminuer la toxicité par rapport au I 102 tout en gardant une activité radioprotectrice.

Les premiers résultats obtenus sont très encourageants puisque la DL 50 du I 109 est > 2000 mg/kg. Son activité, qui demande à être encore étudiée, est

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

assez remarquable puisque l'on constate une survie de 100 % à 30 jours sur des souris ayant reçu 1 500 mg/kg (i.p.) de drogue 15' avant une irradiation de 1 100 Rad.

Les composés I 110 (exemple 31) et I 111 (exemple 32) ont été synthétisés par analogie avec le WR 77913 ($H_2N-CH_2-CH(OH)-CH_2-S-PO_3HNa$) qui donne 100 % de survie à 30 jours sur des souris ayant reçu 400 mg/kg (i.p.) 30' avant une irradiation de 950 ; 970 Rad. (J.R. Piper et coll., J. Med. Chem. 1975, 18, 804).

Les résultats sont encore partiels; néanmoins le I 111 peu toxique (DL 50 > 1 500) présente des survies à 30 jours de 80 % pour 1 000 mg/kg (1 100 Rad) et de 70 % pour 250 mg/kg (900 Rad).

Quant au dérivé I 114 (exemple 34), il présente une conjugaison S-glycyl (voir le I 107) et peut être considéré comme l'inverse du I 102, il présente une légère action radioprotectrice.

EXEMPLE 47

ACTIVITE ANTI-CARCINOGENE

Drogue utilisée :

$HBr, H_2N-CH_2-(C=O)-NH-(CH_2)_2-S-(C=O)-CH_3$ (I 102)

L'activité anti-carcinogène a été déterminée sur des souris porteuses de tumeurs EMT6 ou HT19. On injecte par voie i.p. 695 mg/kg 15 minutes avant le début de l'irradiation à 20 Gy.

Dans le premier cas, on observe pour la dose de 20 Gy une survie de 10^{-2}, mais avec l'administration de la drogue la survie cellulaire est comprise entre 5 et 8.10^{-2} (selon que l'on tient compte ou non du coefficient de clonage).

Pour le second type de tumeur, on observe pour la dose de 20 Gy une survie de 10^{-2} mais avec administration de la drogue la survie cellulaire est comprise entre 2,4 et 4.10^{-2} (même remarque).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

On constate donc que ce composé, outre son pouvoir radioprotecteur ne protège pas (ou peu) les tumeurs, sauf si celles-ci sont nécrosées.

L'un des meilleurs radioprotecteurs actuels, le WR 2721, est structurellement proche du I 102 puisqu'il contient une cystéamine conjuguée avec un groupement propylamine et a sa fonction thiol protégée par un groupement phosphorothioate (instable d'ailleurs, d'où les problèmes rencontrés pour purifier le WR 2721). De plus, il a été montré, principalement par les travaux de Yuhas, que le WR 2721 présentait la propriété remarquable de se concentrer sélectivement dans les tissus normaux (et non dans les cellules cancéreuses).

La conséquence est qu'il protège sélectivement les tissus normaux contre les dommages induits par les radiations, tout en laissant les tumeurs solides supporter seules l'effet des radiations.

Or, dans la mesure où le nombre de cancers induits par la radiothérapie n'est pas négligeable, il y aurait donc là une drogue de choix pouvant être utilisée d'une manière très générale lors de tous les traitements du cancer par cette approche.

De plus, il semblerait aussi que le WR 2721 puisse exercer un effet protecteur sélectif lors des chimiothérapies effectuées avec les drogues alkylantes.

On a montré récemment que le composé type I 102 présentait cette même sélectivité.

Bien que le composé type de départ (I 102) présente un FRD moindre que le WR 2721 (respectivement 1.4 et 2.7 sur la moelle osseuse), le facteur de gain (FRD moelle osseuse/FRD tumeurs) pour un niveau de survie de 5.10^{-1} sur les tumeurs EMT6, est identique pour les deux produits et égal à 1.2.

De plus, le I 102 montre deux avantages par rapport au WR 2721 :

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

- une plus grande stabilité chimique (le WR 2721 en effet n'est pas très stable, ce qui conduit parfois à des résultats non reproductibles),
- une toxicité moindre (DL 50 respective > 1 500 mg/kg et 950 mg/kg.

ABREVIATIONS UTILISEES DANS LA PARTIE EXPERIMENTALE

- Z : benzyloxycarbonyl
- t-PNC : hexachlorocyclotriphosphazène
- THF : tétrahydrofuranne
- TEA : triéthylamine
- CCM : chromatographie sur couche mince (Kieselgel Merck 60F 254)
- BOC : ter-butoxycarbonyl
- AA : amino-acide ou un radical correspondant à R_1-CO-
- TFA : acide trifluoroacétique
- AcOEt : acétate d'éthyle
- Spectre de RMN : s = singulet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet
- Produits commerciaux de provenance Fluka
- MEA : β -mercapto-éthylamine (cystéamine)
- Ø : température
- DMF : diméthylformamide
- MEA : NH_2-CH_2-CH_2-SH ou le radical correspondant
- Chromatographies sur colonnes réalisées avec Kieselgel Merck 60 (70,230 Mesch).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

- REVENDICATIONS -

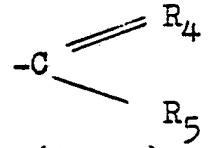
1 - Composé de formule I :

$$R_1\text{-CO-Y-[A]-Y'-}R_2 \qquad (I)$$

dans laquelle l'un des Y et Y' représente S et l'autre NR_3-, R_1 est un radical correspondant à un aminoacide ou un di ou tripeptide R_1-COOH, [A] est un radical alkylène en C_2 ou C_3 qui peut être substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyles en C_1 à C_3 , radical hydroxy libre ou estérifié, hydroxycarbonyle libre ou estérifié ou radical -COR dans lequel R est un radical amino ou $-NH-CH_2-CO_2-H$, R_2 est un radical protecteur de la fonction thiol qui libère la fonction thiol in vivo, R_3 est l'hydrogène ou un radical alkylène en C_1 à C_3 ou, relié au groupement R_2, forme un cycle protecteur de la fonction thiol;
ainsi que les sels de ce composé avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

2 - Composé selon la revendication 1, dans lequel R_1 est un radical alcoylamino droit ou ramifié en C_1 à C_7.

3 - Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est le radical



où R_4 = O, S, NH, N(C_1-C_7)alkyl, R_5 = H, C_1-C_7-alkyl, aryl substitué ou non, NH_2, SH.

4 - Composé selon la revendication 3, caractérisé en ce que R_2 est $-COCH_3$.

5 - Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est un radical $-S-R_6$, R_6 étant une chaîne

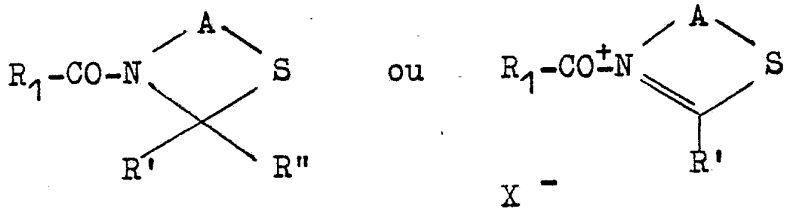
$$R_1\text{-CO-NH-[A]-}$$

ou un radical aryl ou alkyl non substitué ou substitué.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

6 - Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est $-SO_3H$ ou $-PO_3H_2$.

7 - Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, de formule :



dans lesquelles R' = H, C_1-C_7-alkyl, aryl, NH_2, R" = H, C_1-C_7-alkyl, aryl.

8 - Composé selon l'une des revendications 1 à 7, sous forme d'un sel d'ammonium quaternaire, l'anion étant choisi parmi : Br^-, Cl^-, $CF_3CO_2^-$, CH_3-C_6H_4-SO_3^-, $CH_3CO_2^-$.

9 - Composé selon la revendication 1 de formule

$$R_7\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S-(C=O)-alk}_3$$

et

$$R_7\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-S-alk}_2\text{-NH-(C=O)-alk}_3$$

où R_7 est H ou un radical alkyle en C_1 à C_3, alk_1 est une chaîne alkylène droite ou ramifiée en C_1 à C_7, alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyle ou hydroxy libre ou estérifié, alk_3 est un radical C_1-C_7-alkyl non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de chlore.

10 - Composé selon la revendication 9 :
la glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la L-alanyl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la γ-aminobutyryl-N-(S-acétyl)-cystéamine,
la glycyl-N-(S-dichloroacétyl)-cystéamine,
le glycylamino-2 diméthyl-2,2 thioacétyl-1 éthane I 108,
la glycylglycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine I 109,
le glycylamino-3 acétoxy-2 thioacétyl-1 propane I 111,

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

le glycyl-N[(méthyl-2 acétylmercapto-2 éthyl]-amide I 118,
la sarcosyl-N-(S-acétyl)-cystéamine I 123,
ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants.

11 - Composé selon la revendication 1 de formule :

$$R_8\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S}$$
$$|$$
$$R_8\text{-NH-alk}_1\text{-(C=O)-NH-alk}_2\text{-S}$$

dans laquelle R_8 est H ou un radical alkyle en C_1 à C_3, alk_1 est une chaîne alkylényl droite ou ramifiée en C_1 à C_7 et alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyl ou hydroxy libre ou estérifié; ainsi que les sels d'ammonium quaternaires.

12 - Composé selon la revendication 11 :
la diglycyl-N,N'-cystamine,
la di-L-alanyl-N,N'-cystamine,
la di- γ -aminobutyryl-N,N'-cystamine,
le di-(glycylamino-3 acétoxy-2 propyl)-1,2 disulfure I 110,
la di-glycylglycyl-N,N'-cystamine I 116,
la di-sarcosyl-N,N'-cystamine I 124,
ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants.

13 - Composé de formule :
-glycylthio-2 diméthyl-1,1 acétamido-1 éthane I 107
-glycyl-S-(N-acétyl)-cystéamine I 114.

14 - Procédé de préparation d'un composé selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisé en ce qu'on déprotège un composé de formule :

$$(pro)\ R_1\text{-CO-Y-[A]-Y'-}R_2$$

en éliminant le ou les groupements protecteurs pro du radical amino.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

15 - Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que le groupement protecteur est le groupement benzyloxycarbonyl ou ter-butoxycarbonyl.

16 - Application des composés selon l'une des revendications 1 à 13 à titre d'agent radioprotecteur.

17 - Composition pharmaceutique comportant à titre de principe actif au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 13.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

REVENDICATIONS MODIFIEES
[reçues par le Bureau international le 19 novembre 1984 (19.11.84); les revendications originales 1 à 17 ont été remplacées par les revendications modifiées 1 à 15]

1) Composé de formule I :

$$R_1\text{-}CO\text{-}NR_3\text{-}/A/\text{-}S\text{-}R_2$$

dans laquelle R_1 est un radical correspondant à un aminoacide R_1-COOH, /A/ est un radical alkylène en C_2 ou C_3 qui peut être substitué par un radical alcoyle en C_1 à C_3, un radical hydroxy, hydroxycarbonyl ou un radical -COR où R est un radical amino ou $-NH-CH_2-CO_2H$, R_2 est un radical protecteur de la fonction thiol qui libère la fonction thiol in vivo, R_3 est l'hydrogène ou relié au groupement R_2 forme un cycle protecteur de R_2 fonction thiol,
à l'exception de la diglycyl-N,N'cystamine, de la di-β-alanyl-N,N'-cystamine et de la di-phénylalanyl-N,N'-cystamine,
ainsi que les sels de ce composé avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

2) Composé selon la revendication 1 dans lequel R_1 est un radical alcoylamino droit ou ramifié en C_1 à C_7.

3) Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est le radical

$$-C\begin{matrix}=R_4\\ \diagdown R_5\end{matrix}$$

où R_4 = O, S, NH, N(C_1-C_7)alkyl, R_5 = H, C_1-C_7-alkyl, aryl substitué ou non, NH_2, SH.

4) Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est un radical $-S-R_6$, R_6 étant une chaîne

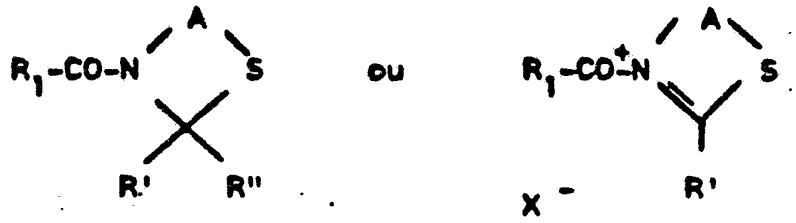
$$R_1\text{-}CO\text{-}NH\text{-}/A/\text{-}$$

ou un radical aryl ou alkyl non substitué ou substitué,
sous réserve que lorsque A est le radical éthylène, alors R_1COOH n'est pas la glycyne, la β-alanine ou la phénylalanine.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

5) Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, dans lequel R_2 est $-SO_3H$ ou $-PO_3H_2$.

6) Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, de formule :



dans lesquelles R' = H, C_1-C_7-alkyl, aryl, NH_2, R" = H, C_1-C_7-alkyl, aryl.

7) Composé selon l'une des revendications 1 à 6, sous forme d'un sel d'ammonium quaternaire, l'anion étant choisi parmi : Br^-, Cl^-, $CF_3CO_2^-$, $CH_3-C_6H_4-SO_3^-$, $CH_3CO_2^-$.

8) Composé selon la revendication 1 de formule :

$$NH_2\text{-}alk_1\text{-}CO\text{-}NH\text{-}alk_2\text{-}S\text{-}CO\text{-}alk_3$$

dans laquelle alk_1 est une chaîne alkylène droite ou ramifiée en C_1 à C_7, alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyle ou hydroxy, alk_3 est un radical C_1-C_7-alkyl substitué par un ou plusieurs atomes de chlore.

9) Composé selon la revendication 8 :

la glycyl-N-(S-acétyl)-cystéamine

la L-alanyl-N-(S-acétyl)-cystéamine

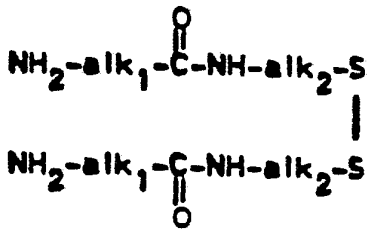
la δ-aminobutyryl-N-(S-acétyl)-cystéamine

la glycyl-N-(S-dichloroacétyl)-cystéamine,

ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

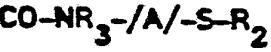
10) Composé selon la revendication 1 de formule :



dans laquelle alk_1 est une chaîne alkylényl droite ou ramifiée en C_1 à C_7 et alk_2 est une chaîne éthylényl ou propylényl portant un ou plusieurs radicaux méthyle ou hydroxy,
sous réserve que lorsque alk_2 est une chaîne éthylène, alors alk_1 n'est pas une chaîne éthylène ou méthylène.

11) Composé selon la revendication 10 :
la di-γ-aminobutyryl-N,N'-cystamine,
ainsi que les sels d'ammonium quaternaires correspondants.

12) Procédé de préparation d'un composé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'on déprotège un composé de formule :



en éliminant le ou les groupements protecteur pro du radical amino.

13) Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que le groupement protecteur est le groupement benzyloxycarbonyl ou ter-butoxycarbonyl.

14) Application des composés selon l'une des revendications 1 à 11 ou de la diglycyl-N,N'-cystamine, de la di-β-alanyl-N,N'-cystamine et di-phénylalanyl-N,N'-cystamine à titre d'agent radioprotecteur.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

15) Composition pharmaceutique comportant à titre de principe actif au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 11 ou la diglycyl-N,N'-cystamine, la di-β-alanyl-N,N'-cystamine et la di-phénylalanyl-N,N'-cystamine.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/FR84/00159

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [3]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.[3] C 07 C 153/09; 149/24; 103/52; 157/14; C 07 F 9/165; A 61 K 31/265; 31/155; 31/66; 37/02

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [4]

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl.[3]	C 07 C 153/00; C 07 C 149/10; C 07 C 103/00; C 07 C 157/00; C 07 F 9/00; A 61 K 31/00; 37/00

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [5]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [14]

Category *	Citation of Document, [16] with indication, where appropriate, of the relevant passages [17]	Relevant to Claim No. [18]
X	GB, A, 710216 (PAKE DAVIS) 9 June 1954 see claims	1,14,16,17
X	Chemical Abstracts, vol. 96, no. 21, 24 May 1982, (Columbus, Ohio, US) E. Shaw et al.: "The specificity of cathepsin B", see page 315, abstract no. 176797m, & Acta Biol. Med. Ger. 1981, 40(10-11), 1503-11	1,2,4,8,11,16, 17
X	Chemical Abstracts, vol. 67, no. 5, 31 July 1967 (Columbus, Ohio, US) G.M. Airapetyan et al.: "Preparation of some derivatives of beta-mercapto-propionic acid, cystamine and cysteamine and study of their radioprotective activity", see page 2036, abstract no. 21570j, & Izv.Akad.Nauk SSSR, Ser. Khim. 1967 (2), 334-41	1,2,4,8,11,16, 17
X	Chemical Abstracts, vol. 61, no. 5, 31 August 1964, (Columbus, Ohio, US) Schuichi Kimura et.al.: "Biological activities of pantothenic acid analogs on Saccharomyces, sake and lactic acid bacteria", see column 6081d, & J. Vitaminol. (Kyoto) 9(3), 243-50 (1963)	1,2,4,8,11, 16,17
X	Chemical Abstracts, vol. 74, no. 23, 7 June 1971 (Columbus, Ohio, US) F. Yu Rachinskii et al.: 'Chemical and physicochemical properties of aminothiols and amino disulfides. II. Stability of aminoalkane disulfides in an alkaline medium", see page 376, abstract no. 124409n, & ZH. Obshch. Khim. 1970, 40 (9), 2109-12	1,2,4,8,11
A	Chemical Abstracts, vol. 74, no. 5, 1st February 1971 (Columbus, Ohio, US) Vilmos Varteresz et al.:"Radio-protective effect of N-subtituted AET (S-(2-aminoethyl) isothiuronium bromide hydrobromide) derivatives having amino acid structure", see page 79, abstract no. 20105u, & Radiat. ./..	

* Special categories of cited documents: [15]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search [2]	Date of Mailing of this International Search Report [2]
10 September 1984 (10.09.84)	12 October 1984 (10.10.84)
International Searching Authority [1] European Patent Office	**Signature of Authorized Officer [20]**

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET) -2-

Category *	Citation of Document, [16] with indication, where appropriate, of the relevant passages [17]	Relevant to Claim No [18]
	Prot. Sensitization, Proc. Int. Symp. 2nd 1969 (pub. 1970), 325-9	1,16,17

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON

INTERNATIONAL APPLICATION NO. PCT/FR 84/00159 (SA 7368)

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 02/10/84

The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB-A- 710216		None	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 84/00159

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) [3]

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

CIB.[3]: C 07 C 153/09; 149/24; 103/52; 157/14; C 07 F 9/165; A 61 K 31/265; 31/155; 31/66; 37/02

II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ

Documentation minimale consultée [4]

Système de classification	Symboles de classification
CIB.[3]:	C 07 C 153/00; C 07 C 149/10; C 07 C 103/00; C 07 C 157/00; C 07 F 9/00; A 61 K 31/00; 37/00

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté [5]

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS [14]

Catégorie *	Identification des documents cités,[16] avec indication, si nécessaire, des passages pertinents [17]	N° des revendications visées [18]
X	GB, A, 710216 (PAKE DAVIS) 9 juin 1954 voir revendications	1,14,16,17
X	Chemical Abstracts, vol. 96, no. 21, 24 mai 1982 (Columbus, Ohio, US) E. Shaw et al.: "The specificity of cathepsin B", voir page 315, abrégé no. 176797m, & Acta Biol. Med. Ger. 1981, 40(10-11), 1503-11	1,2,4,8,11, 16,17
X	Chemical Abstracts, vol. 67, no. 5, 31 juillet 1967 (Columbus, Ohio, US) G.M. Airapetyan et al.: "Preparation of some derivatives of beta-mercapto-propionic acid, cystamine and cysteamine and study of their radioprotective activity", voir page 2036, abrégé no. 21570j, & Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim. 1967(2), 334-41	1,2,4,8,11, 16,17
X	Chemical Abstracts, vol. 61, no. 5, 31 août 1964 (Columbus, Ohio, US)	./.

* Catégories spéciales de documents cités: [15]

«A» document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

«E» document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

«L» document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

«O» document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

«P» document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

«T» document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

«X» document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive

«Y» document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.

«&» document qui fait partie de la même famille de brevets

IV. CERTIFICATION

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée [2]	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale [2]
10 septembre 1984	12 OCT. 1984
Administration chargée de la recherche internationale [1]	**Signature du fonctionnaire autorisé [20]**
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	G.L.M. Kruydenberg

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS [14] (SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE)

Catégorie *	Identification des documents cités, [16] avec indication, si nécessaire des passages pertinents [17]	N° des revendications visées [18]
	Schuichi Kimura et al.: "Biological activities of pantothenic acid analogs on Saccharomyces sake and lactic acid bacteria", voir colonne 6081d, & J. Vitaminol. (Kyoto) 9(3), 243-50(1963)	1,2,4,8,11, 16,17
	--	
X	Chemical Abstracts, vol. 74, no. 23, 7 juin 1971 (Columbus, Ohio, US) F. Yu Rachinskii et al.: "Chemical and physicochemical properties of aminothiols and amino disulfides. II. Stability of aminoalkane disulfides in an alkaline medium", voir page 376, abrégé no. 124409n, & ZH. Obshch. Khim. 1970, 40(9), 2109-12	1,2,4,8,11
	--	
A	Chemical Abstracts, vol. 74, no. 5, 1er février 1971 (Columbus, Ohio, US) Vilmos Varteresz et al.: "Radioprotective effect of N-substituted AET (S-(2-aminoethyl)isothiuronium bromide hydrobromide) derivatives having amino acid structure", voir page 79, abrégé no. 20105u, & Radiat. Prot. Sensitization, Proc. Int. Symp. 2nd 1969 (pub. 1970), 325-9	1,16,17

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE RELATIF

A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO. PCT/FR 84/00159 (SA 7368)

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche international visé ci-dessus. Lesdits membres sont ceux contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 02/10/84

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets	Date de publication
GB-A- 710216		Aucun	