

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

⑫

N° 81 07992

⑤④ Dérivés de l'adénosine à activité anti-inflammatoire et analgésine et compositions thérapeutiques qui les contiennent en tant que principe actif.

⑤① Classification internationale (Int. Cl.³). A 61 K 31/70; C 07 H 19/16.

②② Date de dépôt..... 22 avril 1981.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée : *Italie, 22 avril 1980, n° 21550 A/80.*

④① Date de la mise à la disposition du public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 15 du 16-4-1982.

⑦① Déposant : Société dite : BIORESEARCH SRL, résidant en Italie.

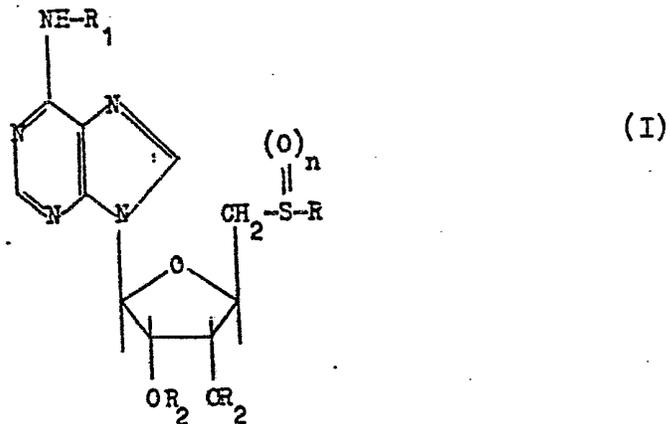
⑦② Invention de : Giorgio Stramentinoli et Federico Gennari.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Office Blétry,
2, bd de Strasbourg, 75010 Paris.

La présente invention concerne des dérivés de l'adénosine à activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique, ainsi que les compositions thérapeutiques qui les contiennent en tant que principe actif.

5 Les composés à activité thérapeutique suivant la présente invention répondent à la formule générale



dans laquelle :

R est un radical alcoyle linéaire ou ramifié contenant 1 à 18
10 atomes de C ou un phényl alcoylène dans lequel la chaîne
alcoylène contient 1 à 6 atomes de C;

R₁ est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un
radical acyle aromatique;

R₂ est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un
15 radical acyle aromatique; éventuellement, les radicaux R₂
forment ensemble une chaîne isopropylidène;

n est égal à 0 ou 1.

En outre, lorsque R₁ est un atome d'hydrogène, l'inven-
tion concerne également les sels d'addition acides des composés

de formule (I).

Les radicaux préférés représentés par R sont les suivants : méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, butyle sec., pentyle, hexyle, heptyle, octyle, décyle, dodécyle, hexa-
5 décyle, octadécyle ou benzyle.

R₁ a de préférence les significations suivantes : hydrogène, acétyl, propionyl, butyryl, benzoyl ou tosyl.

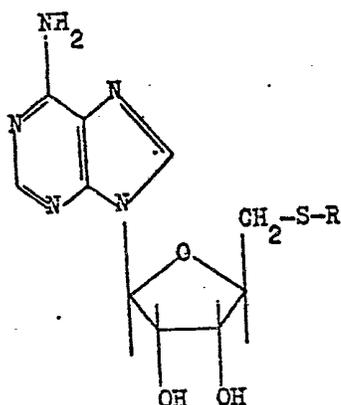
R₂ a de préférence les significations suivantes : hydrogène, acétyl, propionyl, butyryl, benzoyl ou tosyl.

10 Les sels d'addition acides préférés des composés de formule (I) sont les chlorures, les sulfates, les phosphates, les formiates, les acétates, les citrates, les tartrates, les méthane-sulfonates, ou les p-toluène-sulfonates.

Les composés de formule (I) sont en partie nouveaux.

15 Les composés de formule (I) sont préparés par différentes méthodes suivant la signification des divers radicaux.

Pour préparer le groupe de composés de formule



dans laquelle R a les significations données ci-dessus, on a
20 suivi la méthode de Legraverand (Legraverand M., Ibanez S. et leurs collaborateurs (1977) Eur. J. Med. Chem. 12, 105-108), d'après laquelle l'adénosine est convertie en 5'-chloro-5'-désoxyadénosine par réaction avec le chlorure de thionyle dans l'hexaméthylphosphoramide.

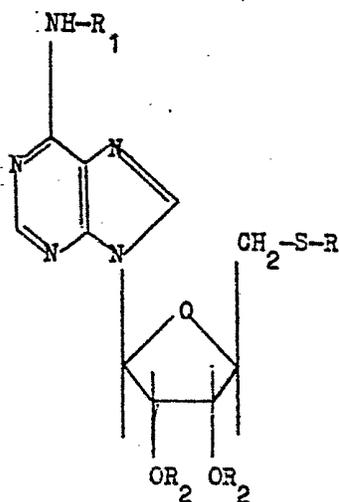
25 Puis la 5'-chloro-5'-désoxyadénosine est convertie en le thio-éther voulu par réaction avec le mercaptan correspondant

dans une solution d'hydroxyde de sodium 2N à 80°C.

Les thio-éthers obtenus sont purifiés par recristallisation à partir d'eau ou à partir d'alcools aliphatiques inférieurs.

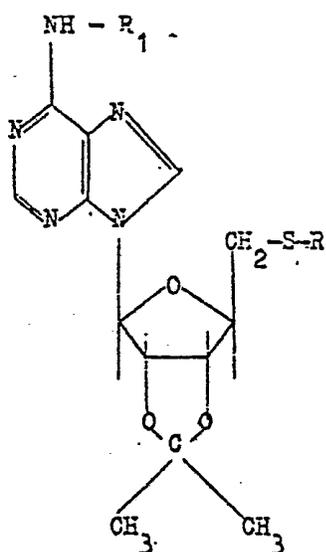
5 Les composés (Ia) peuvent être alors salifiés avec la quantité stochiométrique de l'acide requis.

Les composés de formule générale



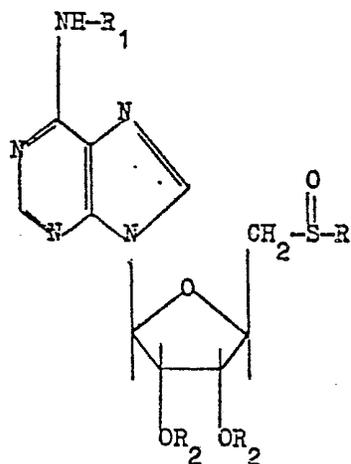
dans laquelle R, R₁ et R₂ ont les significations données ci-
 10 dessus, avec cette condition que R₁ et R₂ doivent être autres que H ou qu'une chaîne isopropylidène, ont été préparés par la méthode de Satom et Makino (Satom K, Makino K (1951) Nature 167, 238) en faisant réagir les composés de formule (Ia) correspondants avec le chlorure d'acyle voulu dans le pyridène
 15 anhydre. De préférence, les produits sont recristallisés à partir d'un mélange 1:1 de chloroforme/éther de pétrole.

Les composés de formule



5 dans laquelle R et R₁ ont les significations données ci-dessus, sont préparés, encore par la méthode de Satom et Makino (dont il a été fait mention précédemment), par la mise en réaction des composés correspondants de formule (I), dans laquelle R₂ est un hydrogène, avec l'acétone en présence de ZnCl₂. Les produits obtenus sont purifiés de préférence par cristallisation à partir d'un mélange 1:1 de chloroforme/éther de pétrole.

10 Les composés de formule

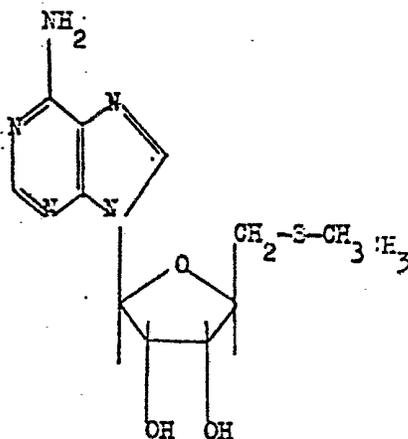


dans laquelle R, R₁ et R₂ sont tels que définis ci-dessus,

sont préparés par oxydation des thio-éthers correspondants, obtenus par les méthodes citées précédemment, au moyen de bromé ou de peroxyde d'hydrogène en solution aqueuse (Green Stein J.P., Winitz M. (1961) Chemistry of the amino acids - 5 John Wiley & Sons Inc. 2146). Les produits obtenus sont purifiés par recristallisation à partir d'eau.

Parmi tous les produits préparés, celui qui s'est révélé particulièrement intéressant aux fins de la présente invention est la 5'-désoxy-5'-méthylthioadénosine (MTA) de formule

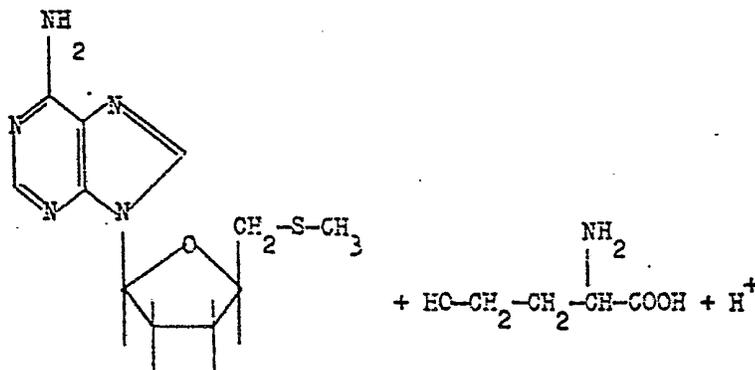
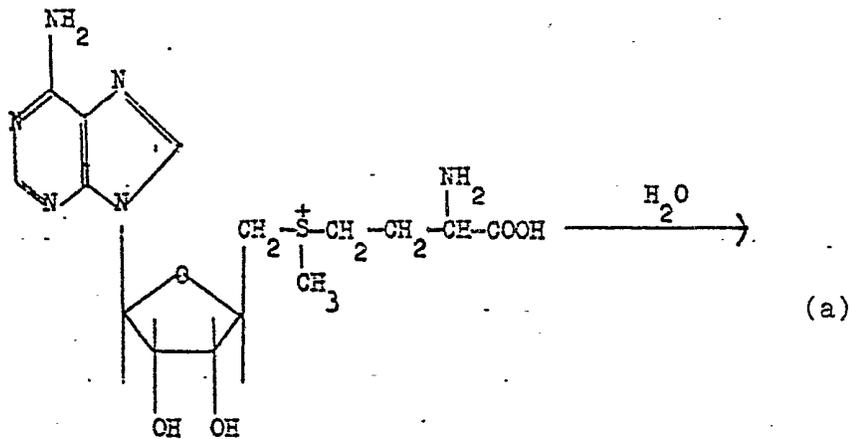
10



(II)

qui est un composé physiologique déjà présent dans des organismes vivants.

On a découvert, pour la préparation de ce produit, un procédé qui est particulièrement simple et économique d'un point de vue industriel. Le nouveau procédé consiste essentiellement à 15 effectuer l'hydrolyse de la S-adénylméthionine dénommée ci-après : SAME dans des conditions d'importance décisive, contrôlées rigoureusement, qui aboutissent à une hydrolyse pratiquement totale et à une cristallisation complète de la MTA :



Le procédé d'hydrolyse contrôlée peut être appliqué à une SAME préparée de n'importe quelle manière. Toutefois, le procédé de préparation de la solution de SAME est lui aussi un facteur important pour mener le nouveau procédé de manière adéquate économiquement.

Les phases opératoires suivantes constituent le mode de réalisation le plus économique du procédé :

- a) Une levure de pain ordinaire est enrichie en SAME par traitement par la méthionine suivant la méthode de Schlenk (Schlenk F. (1965) *Enzymologie* 29, 283);
- b) Les cellules de levure, mises en suspension dans l'eau, sont lysées par traitement par l'acétate d'éthyle ou de méthyle à la température ambiante (demande de brevet allemande P 23 36401.4). En réglant le pH à une valeur comprise entre 4 et 6

et en filtrant, on obtient une solution aqueuse qui contient pratiquement toute la SAME présente dans la levure de départ;

c) La solution est concentrée sous vide à 35-40°C jusqu'à 1/10 environ de son volume initial;

5 d) Le concentré est maintenu à l'ébullition sous reflux pendant 30 minutes environ et le pH est réglé à 7 avec du carbonate de sodium;

e) On laisse la solution reposer à 0-5°C et la MTA précipitée est recueillie pratiquement en totalité et avec une bonne
10 pureté.

Les phases c, d et e, qui sont considérées comme rigoureusement nécessaires pour l'obtention d'une hydrolyse sélective complète de la SAME en MTA sans formation de produits secondaires, sont nouvelles.

15 La préparation de quelques produits utilisés d'après la présente invention est décrite ci-après.

Exemple 1

Préparation de la 5'-désoxy-5'-méthylthioadénosine (MTA)

11 litres d'acétate d'éthyle et 11 litres d'eau à la
20 température ambiante sont ajoutés à 90 kg d'une levure de pain qui a été enrichie en SAME par addition de méthionine jusqu'à ce que la teneur en SAME soit de 6,88 g/kg.

Après agitation énergique pendant 30 minutes, le pH est réglé à 4,5 avec H₂SO₄ dilué, le mélange est filtré et le
25 résidu est lavé à l'eau pour donner 140 litres d'une solution ayant une teneur en SAME de 4,40 g/l, ce qui correspond à 99,5 % de la SAME présente dans la substance de départ.

Le lysat ainsi obtenu est concentré sous vide (30 mm Hg; 35-40°C) jusqu'à un volume d'environ 14 litres. La solution
30 concentrée est maintenue à l'ébullition sous reflux à la pression normale pendant 30 minutes. Elle est refroidie à 20°C, le pH est réglé à 7 avec du carbonate de sodium à 40 % et la solution est abandonnée pendant une nuit dans une cuve de réfrigération (+3°C).

35 Il se forme un précipité blanc qui est filtré, dissous

dans 10 litres d'eau distillée bouillante et cristallisé par refroidissement de la solution ainsi obtenue.

On obtient 410 g de MTA cristalline de grande pureté, ce qui correspond à un rendement de 90 % sur la base de la SAME soumise à l'hydrolyse. Les caractéristiques du produit obtenu coïncident avec celles de la MTA pure préparée par d'autres moyens.

Exemple 2

Préparation de 5'-désoxy-5'-éthylthioadénosine.

10 1 kg d'adénosine est dissous, sous atmosphère d'azote, dans 10 litres d'hexaméthylphosphoramidite et on y ajoute sous refroidissement 7,5 litres de chlorure de thionyle.

On laisse le mélange réagir à la température ambiante pendant 20 heures. On ajoute 10 litres d'eau et le mélange est
15 neutralisé avec NaOH 2N.

On laisse cristalliser pendant une nuit à 3°C la 5'-désoxy-5'-chloradénosine qui se forme dans ces conditions. On la sépare par filtration et on obtient 0,950 kg de 5'-désoxy-5'-chloradénosine (rendement 89 %). 0,950 kg de 5'-désoxy-5'-
20 chloradénosine sont dissous dans 10 litres de NaOH 2N et 200 ml d'éthane-thiol y sont ajoutés. Le mélange est chauffé à 80°C et on le laisse réagir pendant 1 heure. On le neutralise avec de l'acide acétique cristallisable. On laisse précipiter pendant une nuit à 3°C la 5'-désoxy-5'-éthylthioadénosine qui se
25 forme dans ces conditions. Elle est séparée par filtration et recristallisée à partir d'eau.

On obtient 0,830 kg de produit (rendement 80 % sur la base du stade précédent).

Exemple 3

30 Préparation d'autres composés de la catégorie Ia

On opère suivant le procédé décrit dans l'exemple 2, mais en utilisant le propane-thiol, le butane-thiol, l'isobutane-thiol, le pentane-thiol, l'hexane-thiol et le benzyl-thiol respectivement, à la place de l'éthane-thiol.

Exemple 4

Préparation de N⁶,2',3'-triacétyl-5'-désoxy-5'-thioadénosine.

1 kg de MTA est mis en suspension dans 10 litres de pyridine anhydre et on y ajoute 3 litres d'anhydride acétique. On
5 laisse le mélange réagir pendant 4 heures. 20 litres d'eau y sont ajoutés et le mélange est concentré sous vide pour donner une masse huileuse dépourvue de pyridine. Celle-ci est dissoute dans un mélange 1:1 chaud d'éther de pétrole/chloroforme (10 litres) et on laisse cristalliser. Le produit est recristallisé
10 à partir d'un mélange 1:1 d'éther de pétrole/chloroforme. On obtient 1,140 kg de produit (rendement 80 %).

Exemple 5

Préparation d'autres composés de la catégorie Ib.

On opère suivant le procédé décrit dans l'exemple 4, mais
15 en utilisant, à la place de MTA, d'autres thio-éthers ou l'anhydride propionique, l'anhydride butyrique, le chlorure de benzoyle ou le chlorure de tosyle.

Exemple 6

Préparation de la 5'-désoxy-2',3'-isopropylidène-5'-méthylthio-
20 adénosine.

1 kg de MTA est mis en suspension dans 25 litres d'acétone anhydre et 2,5 kg de ZnCl₂ fondu y sont ajoutés. La réaction est menée au reflux pendant 5 heures. Le mélange est alors concentré sous vide jusqu'à 1/3 de son volume initial et on y
25 ajoute 7,5 kg d'octahydrate d'hydroxyde de baryum en suspension aqueuse. Puis on fait barboter de l'anhydride carbonique jusqu'à la neutralité. Le mélange est filtré et le résidu est lavé à l'acétone. Le filtrat est concentré sous vide pour donner un résidu sirupeux. Il est repris dans un mélange 1:1 chaud de
30 chloroforme/éther de pétrole (10 litres), filtré et on le laisse cristalliser. Le produit est recristallisé à partir de chloroforme/éther de pétrole 1:1, pour donner 0,795 kg de produit (rendement 70 %).

Exemple 7

35 Préparation d'autres composés de la catégorie Ic.

On opère suivant le procédé décrit dans l'exemple 6, mais en partant des dérivés correspondants de l'adénosine, à la place de la MTA.

Exemple 8

5 Préparation du sulfoxyde de MTA.

1 kg de MTA est mis en suspension dans 10 litres d'eau et on y ajoute du brome sous refroidissement. La solution aqueuse contenant du brome se décolore immédiatement, du fait de la transformation de la MTA en sulfoxyde par oxydation. On poursuit l'addition de brome jusqu'à ce que la solution ne se décolore plus. On décolore la solution en y ajoutant encore de petites quantités de MTA.

La solution aqueuse est traitée par la résine Amberlite IRA 93 (marque déposée de Rohm und Haas pour une résine échangeuse d'ions faiblement basique à matrice de polystyrène) jusqu'à ce que la réaction des ions brome disparaisse.

Le mélange est filtré et le résidu est lavé à l'eau. La solution aqueuse est concentrée à 10 litres, traitée par le charbon actif (100 g) et lyophilisée.

20 On obtient 0,950 kg de produit (rendement 90 %).

Exemple 9

Préparation d'autres composés de la catégorie Id.

On suit la méthode décrite dans l'exemple 8, mais en partant des dérivés correspondants de l'adénosine à la place de la MTA.

Comme on l'a indiqué au début, il a été constaté que les composés de formule I possédaient une forte activité anti-inflammatoire, s'accompagnant d'une action analgésique et antipyrétique.

30 On a initialement mis en évidence l'activité anti-inflammatoire pour certains termes de la classe de produits, par le test de l'œdème expérimental produit chez le rat par la carragheénine, en déterminant le pourcentage de protection par la méthode de Winter (J. Pharm. exper. Therap. 141, 369, 1963).

35 Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau I.

Tableau 1

5	Composé de formule (I)	Dose administrée oralement (mg/kg)	Pourcentage de protection, calculé d'après le développement de l'oedème
	$n = 0, R = -CH_2, R_1 = R_2 = H$	37	50
	$n = 0, R = -CH_3, R_1 = R_2 = H$	23 (a)	50
10	$n = 0, R = -CH_2-C_6H_5, R_1 = R_2 = H$	47	10
	$n = 0, R = -CH_2-\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}}, R_1 = R_2 = H$	85	62
	$n = 0, R = -(CH_2)_6-CH_3, R_1 = R_2 = H$	95	20
	$n = 0, R = -(CH_2)_{11}-CH_3, R_1 = R_2 = H$	112	10
	$n = 0, R = -(CH_2)_4-CH_3, R_1 = R_2 = H$	90	25
15	$n = 0, R = -CH_2-CH_3, R_1 = R_2 = H$	80	44
	$n = 0, R = -(CH_2)_2-CH_3, R_1 = R_2 = H$	80	53
	$n = 0, R = -\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}}, R_1 = R_2 = H$	80	45
	$n = 0, R = -(CH_2)_3-CH_3, R_1 = R_2 = H$	85	39
	$n = 0, R = \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-CH_2-CH_3, R_1 = R_2 = H$	85	35
20	$n = 0, R = -(CH_2)_7-CH_3, R_1 = R_2 = H$	100	47
	$n = 0, R = -(CH_2)_9-CH_3, R_1 = R_2 = H$	106	33
	$n = 1, R = -CH_3, R_1 = R_2 = H$	156	50
	$n = 1, R = -CH_3, R_1 = R_2 = H$	8,6 (a)	50
	$n = 0, R = -CH_3, R_1 = R_2 = -CO-CH_3$	114	47
25	$n = 0, R = -CH_3, R_1 = R_2 = \text{tosyle}$	204	15
	$n = 0, R = -CH_3, R_1 = R_2 = -CO-C_6H_5$	164	10
	$n = 0, R = -CH, R = R = \text{isopropyle}$	91	20
	Indométhacine	9	50

30 (a) signifie que le produit a été administré par voie intramusculaire.

Comme on peut le voir d'après ce tableau, la DE_{50} de la MTA est de 37 mg/kg et c'est donc la plus faible dose, par administration orale, des composés soumis aux essais. Dans les mêmes conditions expérimentales, la DE_{50} de l'indométhacine est de 9 mg/kg. Avec ces doses, on voit apparaître de graves lésions gastriques, alors qu'à la DE_{50} , la MTA ne donne lieu à aucun effet secondaire sur le système gastro-intestinal. Il convient de noter également que la DL de l'indométhacine chez le rat est de 12 mg/kg (Martelli A, Aspetti di farmacologia dell'inflammatione, page 73, édité par Tamburini, Milan 1973), alors que la DL_{50} de la MTA chez le rat est supérieure à 200 mg/kg/voie orale.

On obtient par conséquent les indices thérapeutiques suivants :

15 Indométhacine, IT = 1,3
MTA, IT = > 54,05.

Les composés suivant l'invention ont été également soumis à une série de tests pharmacologiques visant à confirmer leur activité anti-inflammatoire et à mettre en évidence leur activité analgésique et antipyrétique.

Les résultats obtenus dans certains de ces essais avec la MTA sont donnés ci-après : la MTA est un produit qui, dans tous les cas, s'est révélé le plus actif per os et qui est certainement le plus inoffensif, car c'est un composé qui est physiologiquement présent dans l'organisme, comme on l'a vu précédemment.

Du point de vue de la production industrielle, le procédé pour la préparation de MTA à partir de SAME suivant l'invention est, répétons-le, de loin le plus simple et le plus économique et il permet de commercialiser le produit à un prix particulièrement bas.

Comme on peut le voir d'après les résultats du tableau 1, le sulfoxyde de méthylthioadénosine est particulièrement actif lorsqu'il est administré par voie intra-musculaire. La plus grande activité de ce composé à l'administration intra-muscu-

laire a été confirmée dans tous les essais effectués. On donnera encore quelques résultats significatifs concernant le sulfoxyde de MTA, mais il convient de noter que tous les composés testés se sont révélés actifs dans tous les cas, bien qu'à des
5 niveaux différents.

A - Activité anti-inflammatoire

Les produits ont été testés par pleurite provoquée chez le rat par la carragheénine, suivant la méthode de Velo (Velo G.P., Dunn C.J. et leurs collaborateurs (1973) J. Path. 111,
10 149).

La MTA à la dose de 75 mg/kg per os a fourni une protection de 42,4 % calculée sur la base du volume de l'exsudat, et de 48,8 % calculée sur la base du nombre total de cellules présentes dans l'exsudat.

15 Une protection comparable a été obtenue avec 10 mg/kg d'indométhacine, c'est-à-dire avec une dose beaucoup plus proche de la DL₅₀. Dans les mêmes conditions expérimentales, le sulfoxyde de MTA assure une protection de 75,8 % calculée sur la base du volume d'exsudat, et de 76,4 % calculée sur la
20 base du nombre total de cellules présentes dans l'exsudat, lorsqu'il est administré par voie intra-musculaire à la dose de 80 mg/kg.

B - Activité anti-inflammatoire

Dans le test du granulome chez le rat par boulettes de
25 coton (Winter C.A., Riseley E.A. et leurs collaborateurs (1963) J. Pharm. Exper. Ther. 141, 369) qui est significatif en ce qui concerne l'inflammation chronique, la MTA a fourni une protection de 30 % à la dose orale de 9 mg/kg, avec un IT de 222.

C - L'activité analgésique des produits a été éprouvée par
30 deux tests considérés comme très significatifs.

- Dans le test de la plaque chaude chez la souris, suivant la méthode de Roberts (Roberts E., Simonsen D.G. (1966) Biochem. Pharmac. 15, 1875), la MTA fournit une protection de 50 % à la dose orale de 37 mg/kg. Une protection approximativement
35 équivalente de 58 % est obtenue avec 100 mg/kg d'amidopyrine

administrés par voie buccale.

Dans les mêmes conditions expérimentales, le sulfoxyde de MTA donne une protection de 50 % à la dose de 20 mg/kg par voie intramusculaire et à la dose de 100 mg/kg par voie

5 buccale.

- Dans le test de l'extension provoquée par la phénylquinone (Siegmond E., Cadmus R., Go-Lu (1957) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95, 729), la MTA fournit une protection de 51 % à la dose orale de 37 mg/kg.

10 Dans les mêmes conditions expérimentales, le sulfoxyde de MTA a une DE_{50} de 10 mg/kg lorsqu'il est administré par voie intramusculaire.

D - Activité antipyrétique

Elle a été mesurée pour les nouveaux produits en provoquant une fièvre chez le rat par la levure de bière (Winder C.V. et ses collaborateurs (1961) J. Pharmacol. Ext. Ther. 133, 117).

15 L'effet antipyrétique, évalué une heure après l'administration orale de MTA à la dose de 300 mg/kg, a donné une baisse de température de 4,59 % par rapport aux témoins qui n'étaient
20 traités que par la levure. Ce pourcentage correspond à une baisse de température de 38,8°C à 37,4°C.

A titre de comparaison, l'amidopyrine administrée oralement à la dose de 200 mg/kg a produit une réduction de température de 4,69 % et l'administration intramusculaire de MTA à
25 la dose de 80 mg/kg a donné une baisse de température de 2,35 %.

E - Activité anti-agglomération des plaquettes

Les composés de l'invention ont également été évalués en ce qui concerne leur éventuelle pouvoir anti-agglomération des plaquettes.

30 Comme on le sait, l'agglomération des plaquettes est un phénomène complexe qui peut être divisé en un stade primaire dû à l'action directe d'un stimulus (par exemple le diphosphate d'adénosine, c'est-à-dire l'ADP, ou l'épinéphrine) et un stade
secondaire dû à l'agglomération provoquée par l'ADP libéré par
35 les plaquettes. A cet égard, lorsque les plaquettes entrent en

contact avec le collagène sous-endothélial, ce dernier déclenche une série complète de réactions qui aboutissent à la libération d'ADP par les plaquettes. C'est cet ADP qui provoque la seconde vague d'agglomération des plaquettes.

- 5 On a exécuté les essais suivants afin d'évaluer l'effet anti-agglomérant des nouveaux composés :
- 1) Essais "in vitro" sur l'agglomération des plaquettes provoquée par l'ADP et le collagène, en présence des nouveaux produits;
 - 10 2) Essais "in vitro" sur l'agglomération des plaquettes provoquée par l'acide arachidonique (AA);
 - 3) Essais "in vivo" sur l'agglomération des plaquettes provoquée par l'ADP et le collagène chez des sujets traités par les nouveaux produits.

15 Dans ce cas, les résultats les plus significatifs ont été encore obtenus avec la MTA et, pour cette raison, les résultats obtenus en utilisant ce produit sont donnés comme représentatifs du comportement de la classe entière de produits.

1) Essais "in vitro"

- 20 Du sang a été prélevé sans stagnation et on y a ajouté un anticoagulant (citrate de sodium à 3,8 %) de façon à obtenir un rapport sang/citrate de 9:1. Un plasma riche en plaquettes et un plasma pauvre en plaquettes ont été obtenus par centrifugation à la température ambiante. L'agglomération des pla-
- 25 quettes a été évaluée par la méthode de Born et Cross (G.V.R. Born et M.J. Cross, J. Physiol., Lond. 168, 178, 1963) sur la fraction de plasma riche en plaquettes. Les agents agglomérants ont été utilisés dans les concentrations suivantes : ADP (Sigma) 1 μ M; collagène (Horn) 5 μ g/ml; acide arachidonique 4×10^{-4} M.
- 30 On a utilisé l'adénosine à une concentration de 1×10^{-5} M en tant que substance de référence de l'activité anti-agglomérante.

Les résultats obtenus avec l'ADP sont présentés graphiquement sur la fig. 1, sur laquelle on a porté en abscisses le temps en minutes et en ordonnées le pourcentage d'agglomération.

35 La courbe 1 se rapporte aux témoins, la courbe 2 aux échantil-

lons traités avec 1×10^{-5} M d'adénosine et la courbe 3 aux échantillons traités avec 5×10^{-4} M de MTA.

Du tracé des courbes, il ressort que la MTA diminue fortement l'agglomération primaire des plaquettes due à l'ADP et, en conséquence, inhibe la seconde vague d'agglomération.

Les mêmes essais menés avec le collagène ont donné des résultats négatifs, c'est-à-dire que la MTA n'a manifesté aucune capacité inhibitrice méritant d'être signalée à l'égard de l'agglomération des plaquettes provoquée par le collagène.

2) La fig. 2 montre les effets de différentes concentrations de MTA sur l'agglomération des plaquettes provoquée par l'AA à une concentration de 4×10^{-4} M. La courbe 1 se rapporte aux témoins, la courbe 2 à la MTA à une concentration de $2,5 \times 10^{-4}$ M, la courbe 3 à la MTA à une concentration de 5×10^{-4} M et la courbe 4 à la MTA à une concentration de 10^{-3} M. Comme on le voit, l'effet inhibiteur de la MTA sur l'agglomération des plaquettes est proportionnel à sa concentration. On a également étudié l'aptitude de la MTA à renforcer l'effet inhibiteur de la prostacycline (PGI_2) dans l'agglomération produite par l'AA. Sur la fig. 3, la courbe 1 se rapporte aux témoins, la courbe 2 à la MTA à une concentration de 5×10^{-4} M, la courbe 3 à la PGI_2 à une concentration de 5×10^{-9} M et la courbe 4 à un mélange composé de 5×10^{-4} M de MTA et de 5×10^{-9} M de PGI_2 . Il est visible sur la fig. 3 qu'en cas d'utilisation en mélange, on observe une forte augmentation de l'action anti-agglomérante à des concentrations qui sont inefficaces par elles-mêmes.

3) Essais "in vivo"

Trois sujets volontaires, apparemment en bonne santé, âgés respectivement de 35, 42 et 48 ans et qui n'avaient pris aucune drogue depuis 15 jours au moins, ont été soumis à des essais d'agglomération avant et après avoir consommé les nouveaux produits à la dose de 100 mg toutes les 8 heures pendant 3 jours, puis ces essais ont été analysés. L'échantillon de sang pour la détermination de l'agglomération des plaquettes était

prélevé 2 heures avant l'absorption de la dernière dose de produit faisant l'objet de l'essai.

La fig. 4 présente les résultats obtenus avec la MTA. Plus précisément, les courbes en trait plein se rapportent
5 aux valeurs obtenues avec des échantillons de sang prélevés sur les patients non traités, tandis que les courbes en traits discontinus se rapportent aux valeurs obtenues avec les mêmes patients traités par la MTA. Il est visible que la MTA inhibe
10 fortement l'agglomération des plaquettes provoquée par l'ADP (1 μ M) "in vivo".

Les mêmes essais, répétés avec addition de 5 μ g/ml de collagène au sang, ont montré que la MTA n'est pas capable
15 d'inhiber l'agglomération des plaquettes provoquée par le collagène, mais qu'elle prolonge seulement le temps de latence du phénomène.

Le fait que la MTA (et, dans une mesure plus ou moins comparable, les autres produits de la même classe) inhibe
20 fortement l'agglomération des plaquettes provoquée par l'ADP, alors qu'elle n'a pratiquement aucun effet sur l'agglomération due au collagène, indique que la MTA inhibe la première vague d'agglomération, tandis qu'elle a un effet direct négligeable sur la seconde vague d'agglomération. Son emploi en association avec d'autres drogues anti-agglomérantes connues, qui
25 sont généralement actives à l'égard de la seconde vague, tandis qu'elles ne sont guère efficaces à l'égard de la première vague, est donc particulièrement intéressant.

L'activité mise en évidence suggère l'utilisation de la MTA (et des autres composés de la série, même s'ils sont moins
30 efficaces), non seulement comme drogue anti-agglomération des plaquettes, mais aussi en tant que drogue anti-thrombotique et anti-athérosclérotique, du fait qu'outre qu'elle est la base des mécanismes de thrombogénèse, la relation altérée entre plaquettes et parois vasculaires joue également un rôle primordial dans la maladie athérosclérotique.

F - Activité somnifère

On a utilisé le test de Morris (Morris R.W. (1966) Arch. int. Pharmacodyn. 161, n° 2, 380). Lors de cet essai, la MTA a augmenté de 87 % la durée du sommeil provoqué par le pentobarbital chez la souris, à une dose intramusculaire de 20 mg/kg.

G - Toxicité aiguë

Administrés oralement, les composés de la présente invention sont pratiquement dépourvus de toxicité aiguë. Ils sont pratiquement exempts de toxicité aux doses thérapeutiques, quelle que soit la voie d'administration.

Les valeurs suivantes ont été obtenues pour la MTA et le sulfoxyde de MTA :

	MTA - DL ₅₀ chez la souris : per os	> 2000 mg/kg
	i.v.	360 mg/kg
15	Sulfoxyde de MTA - DL ₅₀ chez la souris : per os	> 2000 mg/kg
	i.v.	400 mg/kg.

Les dérivés de l'adénosine de formule (I) peuvent être administrés, à l'état dilué avec des excipients acceptables pharmacologiquement, sous n'importe quelle forme thérapeutiquement utile, par voie orale, parentérale, veineuse ou rectale. Ils peuvent être également utilisés dans des produits à usage externe pour application topique.

Quelques exemples de compositions pharmaceutiques typiques, contenant la MTA, sont donnés ci-après à titre d'exemple.

25 - Capsules de 100 mg

MTA	100,2 mg
Mannitol	195,0 mg
Stéarate de magnésium	5,0 mg
	<hr/>
	300,2 mg

30 - Capsules de 50 mg

MTA	50,1 mg
Mannitol	100,0 mg
Stéarate de magnésium	3,0 mg
	<hr/>
	153,1 mg

	- <u>Comprimés de 100 mg</u>	
	MTA	100,2 mg
	Amidon	100,0 mg
	Stéarate de magnésium	15,0 mg
5	Lactose	85,0 mg
		<u>300,2 mg</u>
	- <u>Comprimés de 50 mg</u>	
	MTA	50,1 mg
	Amidon	120,0 mg
10	Stéarate de magnésium	15,0 mg
	Lactose	115,0 mg
		<u>300,1 mg</u>
	- <u>Suppositoires de 100 mg</u>	
	MTA	100,2 mg
15	Pâte à suppositoires	1700,0 mg
		<u>1800,2 mg</u>
	- <u>Suppositoires de 50 mg</u>	
	MTA	50,1 mg
	Pâte à suppositoires	1450,0 mg
		<u>1500,1 mg</u>
20	- <u>Ampoule injectable de 50 mg</u>	
	MTA . HCl (équivalent à la base de 56,15 mg)	50 mg
	Lidocaïne HCl	25 mg
	Eau q.s.p.	3 ml
25	- <u>Ampoule injectable de 25 mg</u>	
	MTA . HCl (équivalent à la base de 28,07 mg)	25 mg
	Lidocaïne HCl	20 mg
	Eau q.s.p.	2 ml
30	- <u>Dose orale de 100 mg</u>	
	MTA . HCl (équivalent à la base de 112,3 mg)	100 mg
	Parfum citron	0,025 mg
	Sucre	1 g
35	Agent anti-fermentation	50 mg
	Eau q.s.p.	5 ml

- Dose orale de 50 mg

MTA . HCl (équivalent à la
base de 56,15 mg) 50 mg

Parfum citron 0,015 mg

5 Sucre 0,5 g

Agent anti-fermentation 30 mg

Eau q.s.p. 5 ml

- Onguent à 100 g

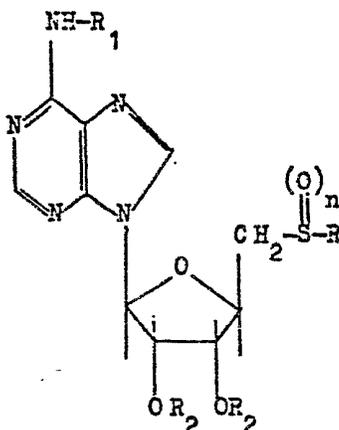
MTA 5 g

10 Base pour onguent hydro-
soluble, q.s.p. 100 g

Anti-oxydant 0,1 g

REVENDICATIONS

1. Composition thérapeutique à activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique, caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, au moins un composé de
5 formule générale



dans laquelle

R est un radical alcoyle à chaîne linéaire ou ramifiée contenant 1 à 18 atomes de C ou un phényl alcoylène dont la chaîne
10 alcoylène contient 1 à 6 atomes de C;

R₁ est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un radical acyle aromatique;

R₂ est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un radical acyle aromatique; éventuellement, les radicaux R₂
15 forment ensemble une chaîne isopropylidène;

n est égal à 0 ou 1.

2. Composition thérapeutique selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle R₁ = R₂ = H, R = CH₃, n = 0.

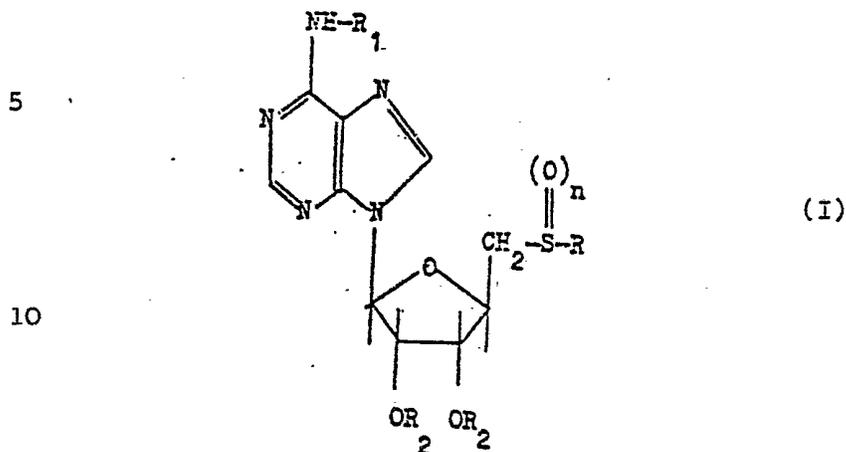
20 3. Composition thérapeutique selon la revendication 1,

caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 = H$, $R = CH_3$, $n = 1$.

4. Composition thérapeutique selon la revendication 1,
5 caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 = H$, $R =$ alcoyle à chaîne linéaire ou ramifiée contenant 1 à 12 atomes de C, $n = 0$.
5. Composition thérapeutique selon la revendication 1,
10 caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 = H$, $R =$ benzyle, $n = 0$.
6. Composition thérapeutique selon la revendication 1,
15 caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 =$ benzyle, $R =$ méthyle, $n = 0$.
7. Composition thérapeutique selon la revendication 1,
20 caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 =$ tosyle, $R =$ méthyle, $n = 0$.
8. Composition thérapeutique selon la revendication 1,
caractérisée en ce qu'elle comprend, en temps que principe actif, un composé de formule (I) dans laquelle $R_1 = R_2 =$ isopropylène, $R =$ méthyle, $n = 0$.
- 25 9. Procédé pour la préparation de 5'-désoxy-5'-méthylthioadénosine, caractérisé en ce qu'une S-adénosyl-méthionine, en solution aqueuse concentrée, est hydrolysée par chauffage au reflux et en ce que la 5'-désoxy-5'-méthylthioadénosine formée est séparée par refroidissement après neutralisation du mélange réactionnel.
30
10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la solution aqueuse de S-adénosyl-méthionine est concentrée par chauffage sous vide à 35-40°C.
11. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que
35 la 5'-désoxy-5'-méthylthioadénosine formée est précipitée par

refroidissement à 0-5°C.

12. Utilisation d'un composé de formule générale



dans laquelle

15 R est un radical alcoyle à chaîne linéaire ou ramifiée contenant 1 à 18 atomes de C ou un phényl alcoylène dont la chaîne alcoylène contient 1 à 6 atomes de C ;

R_1 est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un radical acyle aromatique ;

20 R_2 est H, un radical acyle aliphatique à 1-6 atomes de C ou un radical acyle aromatique ; éventuellement, les radicaux R_2 forment ensemble une chaîne isopropylidène,

n est égal à 0 ou 1 ;

pour la préparation de produits pharmaceutiques à activité

25 anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique.

13. Utilisation du composé de formule (I) dans laquelle

$R_1 = R_2 = H$, $R = CH_3$, $n = 0$ pour la préparation de produits pharmaceutiques à activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique.

30 14. Utilisation du composé de formule (I) dans laquelle

$R_1 = R_2 = H$, $R = CH_3$, $n = 1$ pour la préparation de produits pharmaceutiques à activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique.

1/4

50

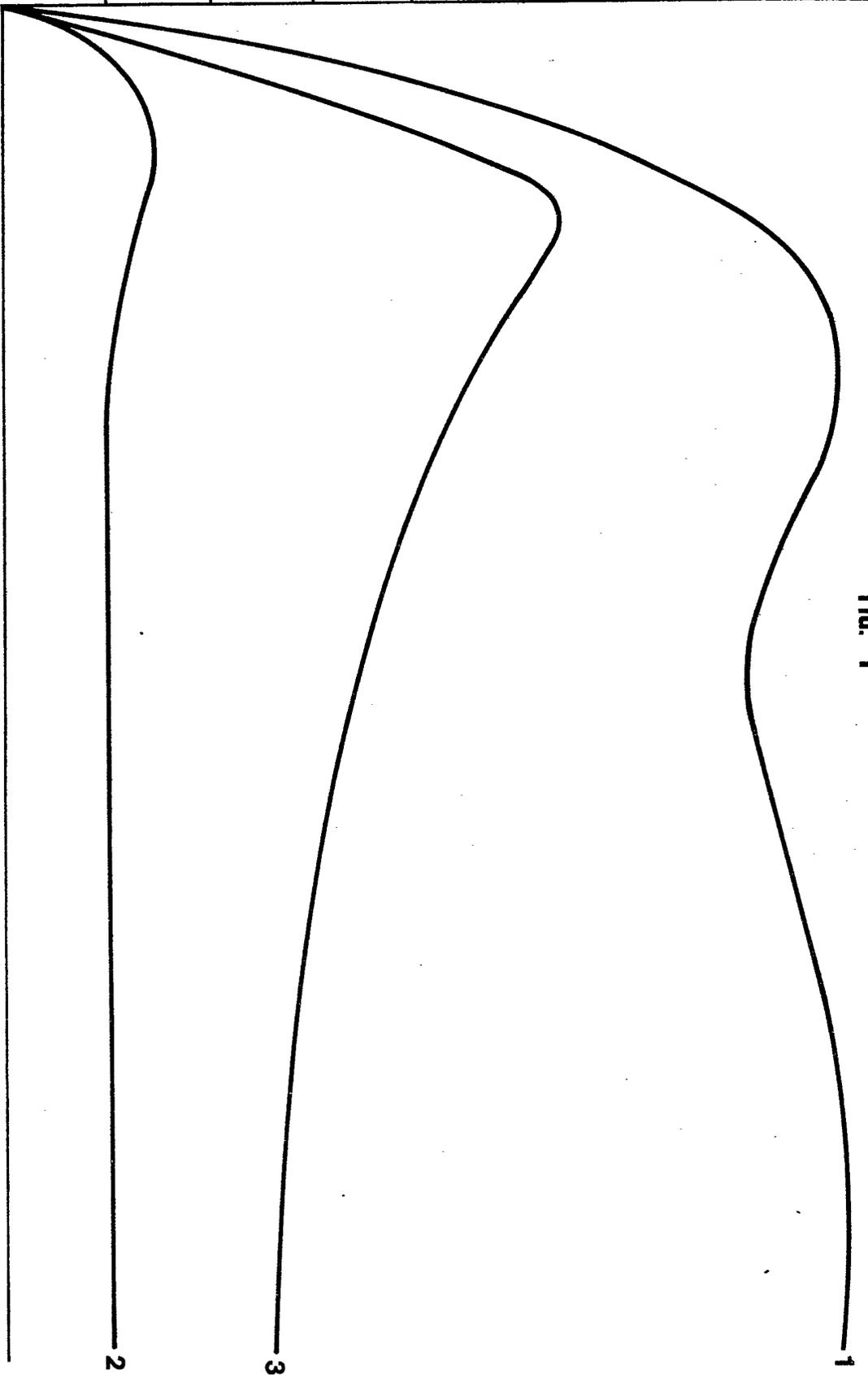


FIG. 1

FIG. 2



FIG. 3



50

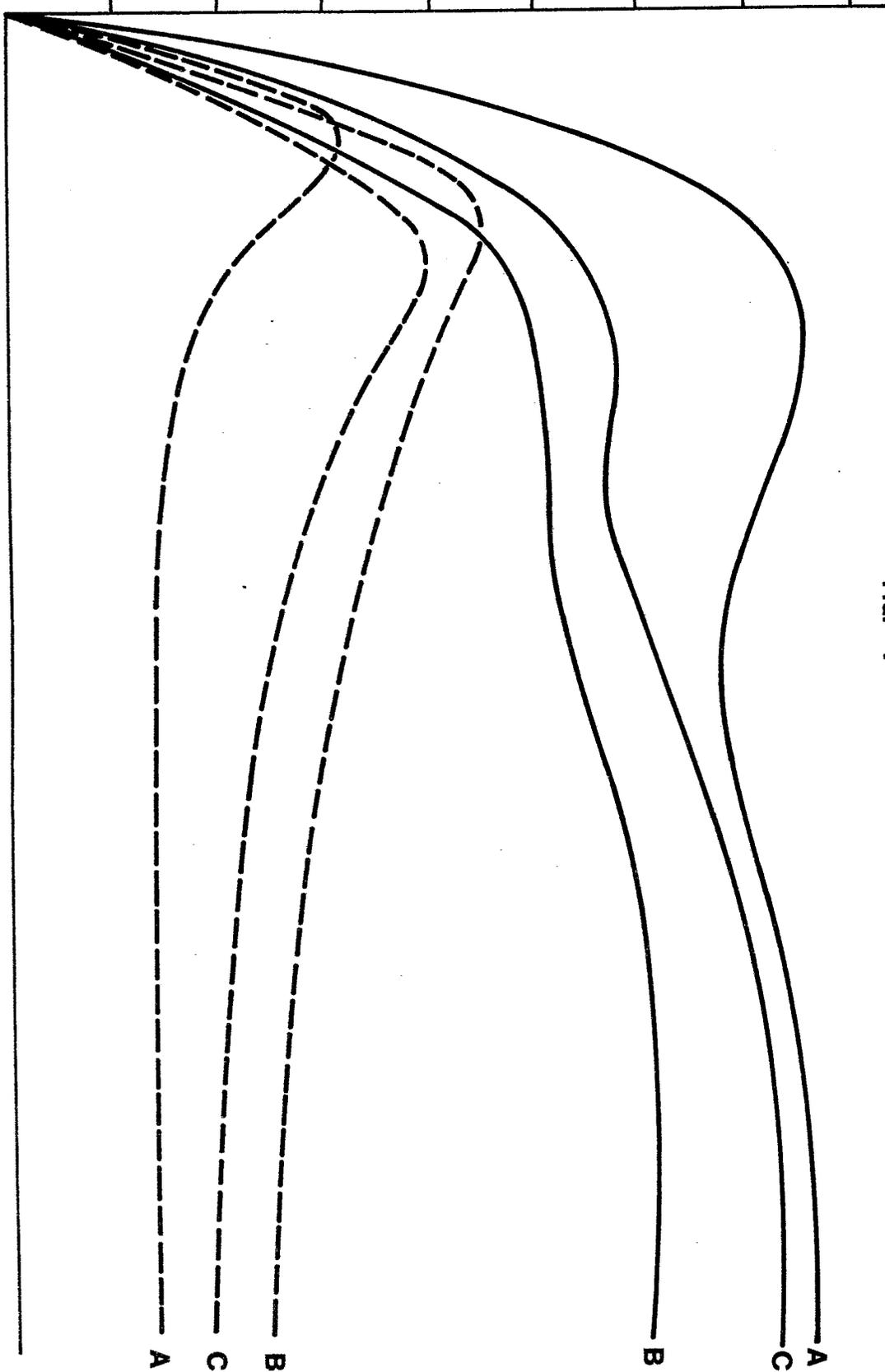


FIG. 4