

①2 **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION** **A1**

②2 Date de dépôt : 04.06.91.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : 11.12.92 Bulletin 92/50.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : *ADIR ET COMPAGNIE — FR.*

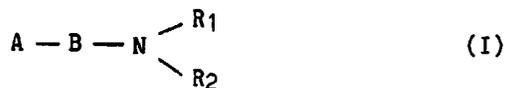
⑦2 Inventeur(s) : *Fauchere Jean-Luc, Kucharczyk Nathalie, Morris Angela D., Paladino Joseph, Bonnet Jacqueline et Thuriau Christophe.*

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire :

⑤4 Nouveaux peptides et pseudopeptides, dérivés de tachykinines, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

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



dans laquelle

R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un groupement alkyle, cycloalkyle ou benzyle,

B représente un résidu d'acide aminé aromatique,

A représente un résidu peptidique comportant de un à trois acides aminés, sous forme cyclique ou linéaire.

Médicaments.



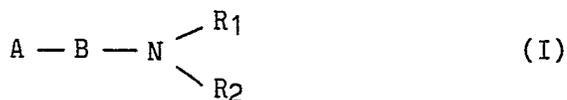
La présente invention concerne de nouveaux peptides et pseudopeptides dérivés de tachykinines, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

5 Les tachykinines forment une famille de peptides produisant des contractions rapides des fibres musculaires lisses, par opposition aux contractions lentes développées par les bradykinines. La substance P, la neurokinine A et la neurokinine B constituent les principales tachykinines endogènes correspondant respectivement aux récepteurs NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> et NK<sub>3</sub>.

10 De nombreux peptides antagonistes de tachykinines ont été décrits dans la littérature. C'est le cas par exemple des composés décrits dans les brevets EP 0333174, EP 0394989.

15 La présente invention a pour objet des peptides synthétiques, qui, outre le fait qu'ils soient nouveaux, se sont montrés particulièrement intéressants par l'intensité de leurs propriétés pharmacologiques. Ils possèdent non seulement des propriétés antagonistes puissantes vis-à-vis des récepteurs aux tachykinines et plus particulièrement sélectives et intenses vis-à-vis des récepteurs NK<sub>1</sub> c'est-à-dire de substance P. Ces propriétés les rendent utilisables plus particulièrement dans le traitement de la douleur, de l'inflammation, des troubles gastro-intestinaux, de l'asthme, des allergies et des maladies du système nerveux central.

20 L'invention concerne plus particulièrement de nouveaux dérivés peptidiques répondant à la formule générale (I) :



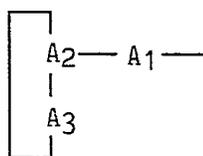
25 dans laquelle :

R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un groupement alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) linéaire ou ramifié, un groupement cycloalkyle (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>) ou un groupement benzyle,

B représente un résidu d'amino-acide aromatique,

A représente

\* soit un résidu peptidique de formule :



5 dans lequel :

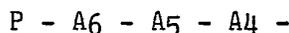
A<sub>1</sub> représente une liaison, un résidu tryptophane (Trp), tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)) ou tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)),

10 A<sub>2</sub> représente un résidu acide aspartique (Asp) ou acide glutamique (Glu),

15 A<sub>3</sub> représente un résidu (1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine-3-carbonyl (Tic), 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo), méthylphénylalanine (MePhe), arginine (Arg), arginine protégé par un radical nitro (Arg (NO<sub>2</sub>)), 6,7-dihydroxy-(1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine (Dht), spinacine (Spi), 4-hydroxyproline (Hyp) ou β-naphtylalanine (Nal),

étant entendu que la liaison peptidique (-CO-NH-) entre A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> ou entre A<sub>2</sub> et B dans le cas où A<sub>1</sub> est une liaison, peut être remplacée par une liaison pseudopeptidique choisie parmi -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S-,

20 \* soit un résidu peptidique de formule :



dans lequel :

25 A<sub>4</sub> représente un résidu 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo), leucine (Leu), β-naphtylalanine (Nal), tryptophane (Trp), tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)) ou tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)),

A5 représente une liaison ou un résidu phénylalanine (Phe),  $\beta$ -naphtylalanine (Nal) ou 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo),

5 A6 représente une liaison ou un résidu tryptophane (Trp), tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)), tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)), ou 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo),

10 P représente un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur de la fonction amine tel que benzyloxycarbonyl (Z), tert-butoxycarbonyl (Boc), 3-indolylcarbonyl, benzhydrylcarbonyl ou 9-fluorénylméthylloxycarbonyl (Fmoc),

étant entendu que la liaison peptidique (-CO-NH-) entre A5 et A6, dans le cas où A5 et A6 ne sont pas des liaisons, peut être remplacée par une liaison pseudopeptidique choisie parmi -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S-,

15 leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, étant entendu que chaque amino-acide de la séquence peptidique est optiquement pur et que le carbone  $\alpha$  de chaque amino-acide peut être de configuration D ou L.

20 Par résidu d'acide-amino aromatique, on entend plus particulièrement résidu phénylalanine (Phe), tyrosine (Tyr), (1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine-3-carbonyl (Tic), tryptophane (Trp) ou tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)).

25 Parmi les acides pharmaceutiquement acceptables, on peut citer à titre non limitatif les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique, phosphonique, acétique, trifluoroacétique, lactique, pyruvique, malonique, succinique, glutarique, fumarique, tartrique, maléique, citrique, ascorbique, oxalique, méthane sulfonique, camphorique, etc...

Parmi les bases pharmaceutiquement acceptables, on peut citer à titre non limitatif l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium, la triéthylamine, la tertbutylamine, etc...

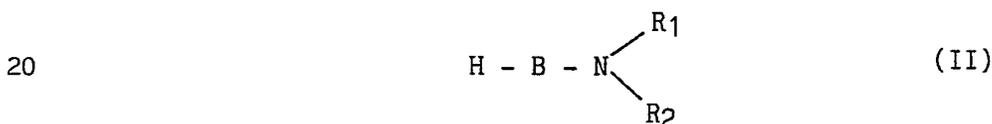
5 L'invention s'étend aussi au procédé de préparation des composés de formule (I) qui peuvent être obtenus par différentes méthodes telles que la synthèse séquentielle sur phase solide, la synthèse enzymatique, la synthèse génétique par clonage et expression des gènes dans des bactéries transformées ou par des combinaisons diverses de ces techniques.

10 Les peptides de la présente invention sont généralement obtenus par couplage en solution de fragments peptidiques sélectivement protégés, qui peuvent être préparés soit sur phase solide, soit en solution.

Les méthodes générales de la synthèse des peptides sur phase solide ont été décrites par B.W. ERICKSON et R.B. MERRIFIELD ("The Proteins", Solid-Phase Peptide Synthesis, 3ème édition, 257-527, 1976).

15 Plus spécifiquement, le procédé de préparation des composés de l'invention suit la méthode de synthèse et de couplage des fragments en solution, bien adaptée à la taille et aux modifications des composés.

Ce procédé est caractérisé en ce que l'on fait réagir un amide de formule (II), optiquement pur :



dans laquelle B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont la même signification que dans la formule (I),

avec une deuxième amino-acide, optiquement pur, dont la fonction amine N-terminale est protégée, de formule (III) ou (IV), selon le composé de  
25 formule (I) que l'on souhaite obtenir :

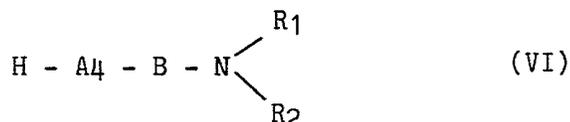
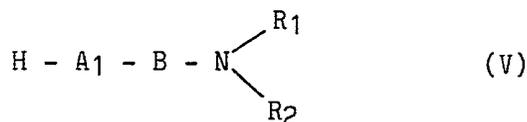


dans lesquelles :

P<sub>1</sub> représente un groupement protecteur choisi parmi benzyl-oxycarbonyl (Z), tert-butuloxycarbonyl (Boc), 9-fluorométhylcarbonyl (Fmoc),

5 A<sub>1</sub> et A<sub>4</sub> ont la même signification que dans la formule (I),

en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique  
choisi parmi le couple dicyclohexylcarbodiimide (DCC) - hydroxybenzo-  
triazole (HOBT), le benzotriazol-1-oxyltris (diméthylamino) phosphonium  
hexafluorophosphate (BOP) ou encore le diphénylphosphorylazide (DPPA),  
10 pour conduire respectivement, après déprotection sélective de la fonction  
amine N-terminale, aux composés des formules (V) et (VI), selon le dérivé  
de formule (I) que l'on souhaite obtenir :

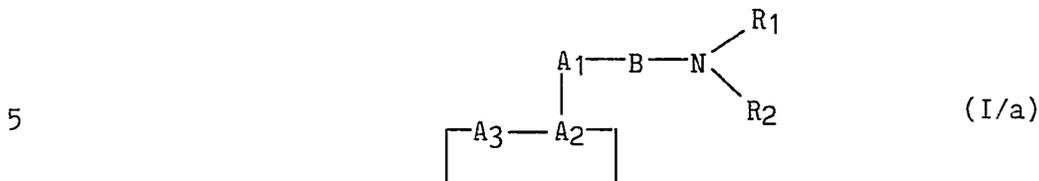


15 dans lesquelles A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont les mêmes significations que dans  
la formule (I),  
composé de formule (V) que l'on fait réagir avec un composé de formule  
(VII) :



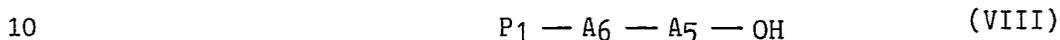
20 dans laquelle A<sub>2</sub> et A<sub>3</sub> ont la même signification que dans la formule (I)  
(dérivé de formule (VII) lui-même obtenu par couplage peptidique classique  
des amino-acides optiquement purs, A<sub>3</sub>-OH et A<sub>2</sub>-OH protégés, cyclisation en  
dicétopipérazine correspondante par chauffage dans un solvant organique,  
déprotection et purification),

en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique décrit précédemment,  
pour conduire à un composé de formule (I/a), cas particulier des composés de formule (I),



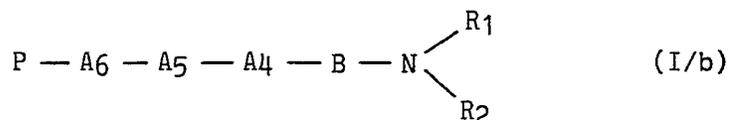
dans laquelle A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont la même signification que dans la formule (I),

composé de formule (VI) que l'on fait réagir avec un composé de formule (VIII) :



dans laquelle P<sub>1</sub> a la même signification que précédemment, A<sub>5</sub> et A<sub>6</sub> la même signification que dans la formule (I),  
(dérivé de formule (VIII), lui-même obtenu par couplage peptidique classique des amino-acides A<sub>5</sub>-OH et A<sub>6</sub>-OH protégés),

15 en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique décrit précédemment,  
pour conduire, après traitement usuel à un composé de formule (I/b), cas particulier des composés de formule (I),



20 dans laquelle A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, B, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et P ont la même signification que dans la formule (I),

composés de formule (I/a) ou (I/b) :

que l'on purifie par une technique classique de purification,

que l'on transforme, le cas échéant, en leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, qui, lorsqu'ils contiennent une liaison pseudopeptique -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S- sont préparés selon le procédé décrit précédemment, 5 l'introduction de la liaison -CH<sub>2</sub>-NH-, se faisant en préparant en solution l'aldéhyde P<sub>1</sub>-NH-CHR-CHO (P<sub>1</sub> = groupement protecteur choisi parmi Boc, Fmoc, Z) selon la technique décrite par FEHRENTZ et CASTRO (Synthesis, 676-678, 1983) et en le condensant avec la chaîne peptidique croissante soit sur phase solide, selon la technique décrite par SASAKI et Coy 10 (Peptides, 8, 119-121, 1988), soit en solution, l'introduction de la liaison -CH<sub>2</sub>-S- se faisant en condensant le thiol de formule P<sub>1</sub>-NH-CHR-CH<sub>2</sub>SH, préparé à partir de l'alcool correspondant, sur le bromure de désamino-peptide C-terminal.

Les composés de l'invention possèdent des propriétés 15 pharmacologiques très intéressantes. Ce sont des ligands spécifiques aux récepteurs des tachykinines qui possèdent des propriétés antagonistes vis-à-vis des récepteurs NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> et NK<sub>3</sub>. Ces propriétés antagonistes sont particulièrement intenses vis-à-vis des récepteurs NK<sub>1</sub>. Les récepteurs NK<sub>1</sub> et NK<sub>3</sub> sont impliqués dans la régulation de la transmission de la douleur et l'augmentation de la perméabilité vasculaire. De plus, la stimulation 20 des récepteurs NK<sub>1</sub> induit une hypersalivation, celle des récepteurs NK<sub>2</sub> entraîne tachycardie, hypotension et bronchoconstriction, enfin celle des récepteurs NK<sub>3</sub> est suivie de bradycardie, d'hypotension et de vasodilatation périphérique (D. REGOLI et coll., TIPS, 9, 290-295, 1988).

25 La présente invention a également pour objet les compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un composé de formule générale (I) ou un de ses sels d'addition à un acide pharmaceutiquement acceptable, seul ou en combinaison avec un ou plusieurs excipients ou véhicules inertes, non toxiques.

30 Parmi les compositions pharmaceutiques selon l'invention, on pourra citer plus particulièrement celles qui conviennent pour l'administration orale, parentérale, nasale, les comprimés simples ou dragéifiés, les comprimés sublinguaux, les sachets, les paquets, les gélules, les glossettes, les tablettes, les suppositoires, crèmes, 35 pommades, gels dermiques, les aérosols.

La posologie varie selon l'âge et le poids du patient, la nature et la sévérité de l'affection ainsi que la voie d'administration.

5 Celle-ci peut être orale, nasale, rectale ou parentérale. D'une manière générale, elle s'échelonne entre 0,2 et 100 mg pour un traitement en une ou plusieurs prises par 24 heures.

Les exemples suivants illustrent l'invention et ne la limitent en aucune façon.

Les acides aminés dont les abréviations commencent par une lettre majuscule sont de configuration L.

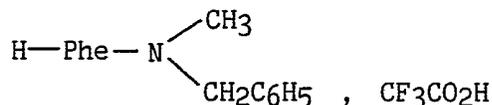
10 Les acides aminés dont les abréviations commencent par une lettre minuscule sont de configuration D.

L'acide aminé nommé Abo est de configuration 3S.

La lettre  $\psi$  indique la présence d'une liaison pseudopeptidique dont la nature est indiquée entre parenthèses.

15 Les préparations suivantes ne permettent pas d'obtenir les composés de l'invention mais conduisent à des intermédiaires utiles dans la préparation des composés de l'invention.

PREPARATION A :



20 60 mmoles de Boc-Phe-OH et 60 mmoles de méthylbenzylamine sont dissoutes dans 150 ml de diméthylformamide. 60 mmoles d'hydroxybenzotriazole (HOBT) dans 100 ml de diméthylformamide sont ajoutées au mélange précédent puis 80 mmoles de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) en solution dans 40 ml de diméthylformamide. L'agitation est maintenue 16  
25 heures à température ambiante.

Après filtration de la dicyclohexylurée formée et évaporation du solvant, le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle et la phase organique est lavée par une solution à 5 % d'hydrogénocarbonate de sodium puis par une solution de sulfate de potassium et enfin par une solution saturée de chlorure de sodium.

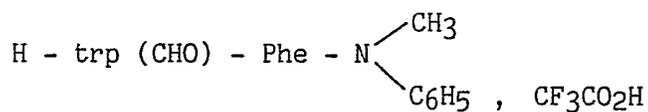
5

Après évaporation du solvant, le résidu brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice. La fonction amine terminale de la phénylalanine est déprotégée par traitement du composé obtenu pendant 20 minutes dans de l'acide trifluoroacétique. Le produit attendu est alors obtenu sous forme de trifluoroacétate.

10

Rendement : 92 %

PREPARATION B :



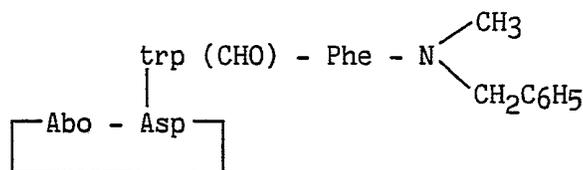
50 mmoles du composé obtenu dans la préparation A sont dissoutes dans 100 ml de diméthylformamide en présence de 50 mmoles de triéthylamine. Une solution contenant 50 mmoles de Boc-trp (CHO)-OH, 50 mmoles de HOBT dans 70 ml de diméthylformamide est ajoutée au mélange précédent, suivie par l'addition d'une solution contenant 70 mmoles de DCC dans 30 ml de diméthylformamide. L'ensemble est maintenu 16 heures sous agitation à température ambiante. Le produit attendu sous forme de trifluoroacétate est isolé, purifié et déprotégé procédant comme dans la préparation A.

15

20

Rendement : 78 %

EXEMPLE 1 :



25

STADE A : Fmoc - Asp (OBu) - Abo - OHe

35 mmoles de H-Abo-OMe, HCL sont dissoutes dans 70 ml de diméthylformamide en présence de 35 mmoles de triéthylamine. Une solution contenant 35 mmoles de Fmoc-Asp (OBu)-OH et 35 mmoles de HOBT est alors  
5 ajouté au mélange précédent, suivie par l'addition d'une solution contenant 42 mmoles de DCC dans 20 ml de diméthylformamide. L'ensemble est maintenu 14 heures sous agitation à température ambiante. Le produit attendu est isolé en procédant comme dans la préparation A et purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme solvant d'élution  
10 un mélange acétate d'éthyle/pentane : 1/1.

Rendement : 96 %

STADE B :



12 mmoles du composé obtenu au stade précédent sont dissoutes  
15 dans 60 ml d'un mélange diméthylformamide/pipéridine (80/20). L'ensemble est maintenu sous agitation pendant 15 minutes à température ambiante, sous agitation.

Après évaporation des solvants, le résidu est repris par 60 ml de méthanol, porté 2 heures à reflux.

20 Après refroidissement et évaporation du solvant, le produit attendu est obtenu et purifié sur colonne de silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant d'élution.

Rendement : 69 %

STADE C :

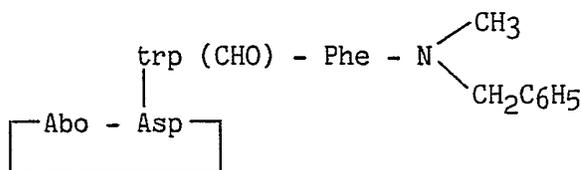


9 mmoles du composé obtenu au stade précédent sont dissoutes dans 80 ml d'un mélange dichlorométhane/acide acétique (50/50) et l'ensemble est agité 1 heure à température ambiante.

Après évaporation des solvants, le résidu est repris par de l'éther éthylique. Le produit attendu précipite, est isolé par filtration, puis lavé et séché.

Rendement : 69 %

STADE D :



1,7 mmoles du composé obtenu dans la préparation B sont dissoutes dans 15 ml de diméthylformamide en présence de 1,7 mmoles de triéthylamine. Une solution contenant 1,7 mmoles du composé obtenu au stade C et 1,7 mmoles de HOBt dans 12 ml de diméthylformamide est ajoutée au mélange précédent, suivie par l'addition d'une solution contenant 1,8 mmoles de DCC dans 1 ml de diméthylformamide. L'ensemble est maintenu 14 heures sous agitation à température ambiante. Le produit attendu est isolé en procédant comme dans la préparation A et purifié par chromatographie sur silice C18 en utilisant comme solvant d'élution un mélange acétonitrile/eau/acide trifluoroacétique (40/60/0,2).

Rendement : 64 %

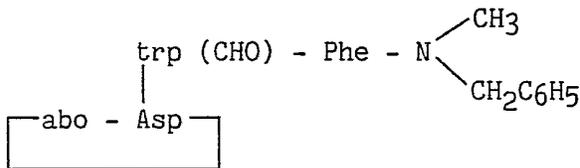
Spectre de masse (FAB) MH<sup>+</sup> : m/z = 717 (masse moléculaire : 716,8)

L'analyse du produit obtenu est réalisée après décomposition de celui-ci en acides aminés par hydrolyse acide et dosage quantitatif des acides aminés obtenus par chromatographie liquide :

	Abo	Asp	Phe + Trp
% calculé	1	1	2
% trouvé	1,09	1,09	1,82

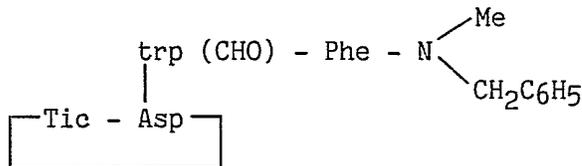
Les exemples suivants ont été obtenus en utilisant le même procédé de synthèse que celui décrit dans l'exemple 1.

EXEMPLE 2 :



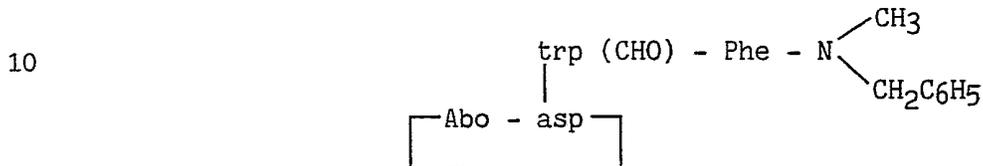
5 Spectre de masse (Fab) : MH<sup>+</sup> : m/z = 717 (masse moléculaire : 716,8)

EXEMPLE 3 :



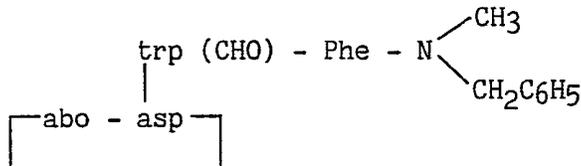
Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 739 (masse moléculaire : 738,8)

EXEMPLE 4 :



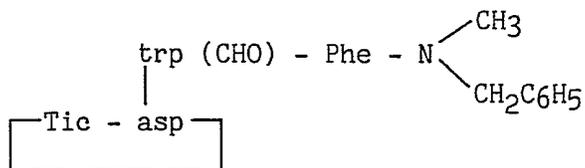
Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 717 (masse moléculaire : 716,8)

EXEMPLE 5 :



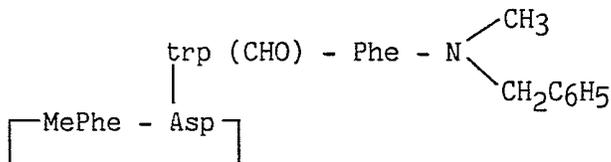
Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 717 (masse moléculaire : 716,8)

15 EXEMPLE 6 :



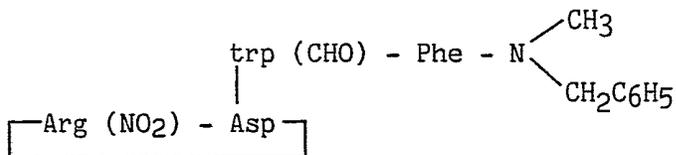
Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 739$  (masse moléculaire : 738,8)

EXEMPLE 7 :



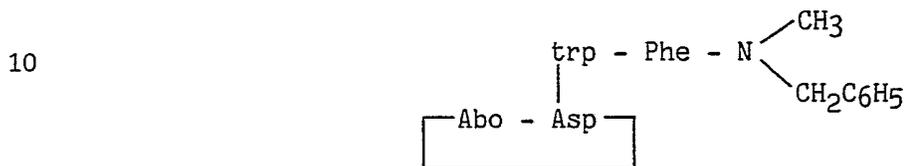
5 Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 741$  (masse moléculaire : 740,8)

EXEMPLE 8 :



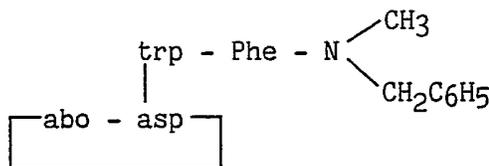
Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 781$  (masse moléculaire : 780,8)

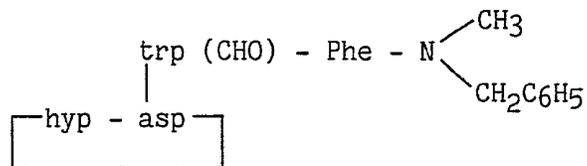
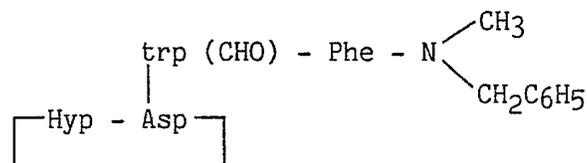
EXEMPLE 9 :



10

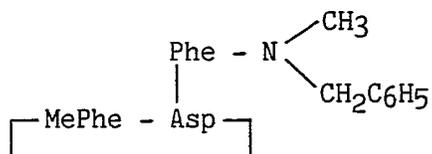
EXEMPLE 10 :



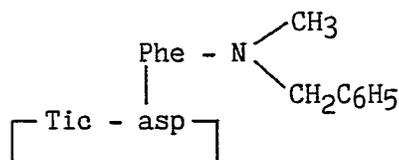
**EXEMPLE 11 :****EXEMPLE 12 :**

5 Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 693$  (masse moléculaire : 692,8)

Dans les exemples suivants, on procède comme dans l'exemple 1 mais on utilise au stade D le produit obtenu dans la préparation A.

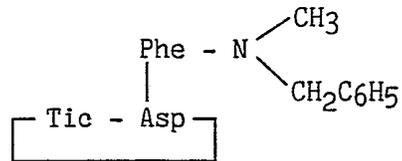
**EXEMPLE 13 :**

10 Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 527$  (masse moléculaire : 526,6)

**EXEMPLE 14 :**

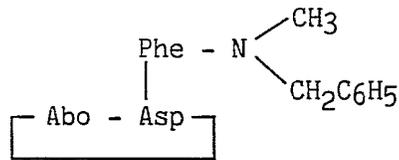
Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 525$  (masse moléculaire : 524,6)

**EXEMPLE 15 :**

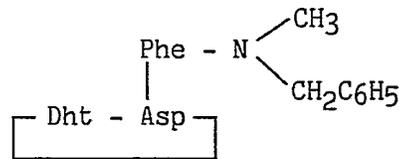


Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 525 (masse moléculaire : 524,6)

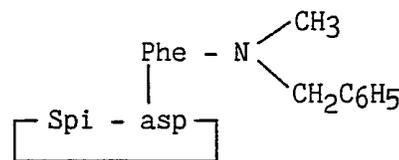
EXEMPLE 16 :



5 EXEMPLE 17 :

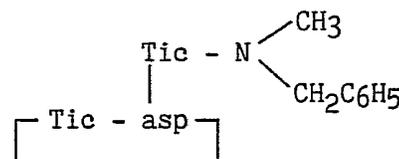


EXEMPLE 18 :

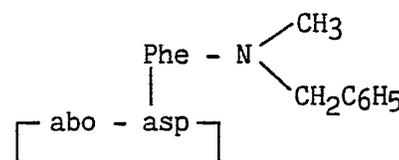


EXEMPLE 19 :

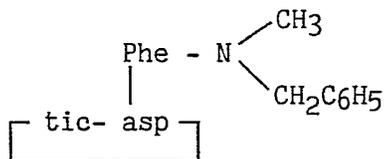
10



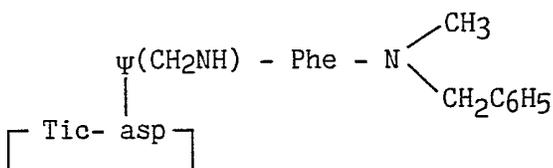
EXEMPLE 20 :



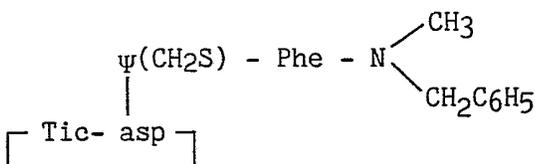
EXEMPLE 21 :



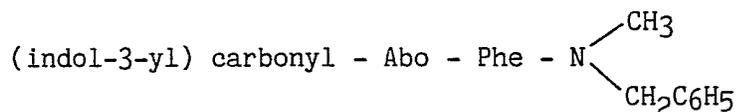
EXEMPLE 22 :



5 EXEMPLE 23 :

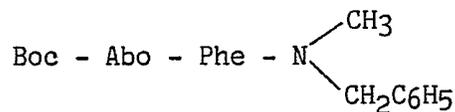


EXEMPLE 24 :



STADE A :

10

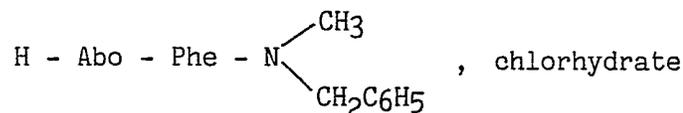


15

A une solution contenant 3,3 mmoles du composé obtenu dans la préparation A (sous forme de chlorhydrate) et 3,3 mmoles de triéthylamine dans 35 ml de diméthylformamide, sont ajoutées 3,3 mmoles de Boc-Abo-OH, 3,3 mmoles d'HOBT et 3,6 mmoles de DCC. Le mélange est maintenu 18 heures sous agitation. Le produit attendu est isolé en procédant comme dans la préparation A et purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme solvant d'élution l'acétate d'éthyle.

Rendement : 83 %

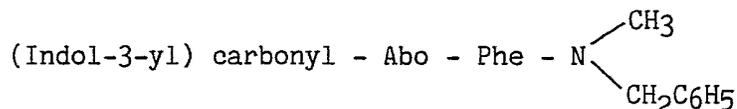
STADE B :



5 2,8 mmoles du produit obtenu au stade A sont introduites dans une solution d'acide chlorhydrique 3,2 N dans de l'acétate d'éthyle. L'ensemble est maintenu sous agitation à température ambiante pendant une heure, puis concentré sous vide. Le résidu est repris par de l'éther. Le produit attendu précipite, est filtré, lavé à l'éther et séché.

Rendement : 54 %

10 STADE C :



15 A une solution contenant 1,13 mmole du composé obtenu au stade précédent et 1,13 mmole de triéthylamine dans 12 ml de diméthylformamide sont ajoutées successivement 1,13 mmole d'acide 3-indolecarboxylique, 1,13 mmole d'HOBT et 1,24 mmole de DCC. Le mélange est maintenu 24 heures sous agitation. Le produit attendu est obtenu en procédant comme dans la préparation A et purifié par chromatographie.

Rendement : 23 %

Spectre de masse (FAB) :  $\text{MH}^+$  :  $m/z = 549$  (masse moléculaire : 548,7)

20 Les exemples suivants ont été obtenus en utilisant le même procédé de synthèse que celui décrit dans l'exemple 24.

EXEMPLE 25 : H - trp - Phe - Abo - Phe -  $\text{NH}_2$ ,  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$

Spectre de masse (FAB) :  $MH^+$  :  $m/z$  = 635  
(masse moléculaire, base libre : 634,8)

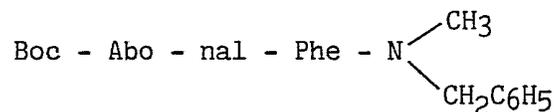
EXEMPLE 26 : Z - Phe - abo - trp - NH<sub>2</sub>

Spectre de masse (FAB) :  $MH^+$  :  $m/z$  = 622 (masse moléculaire : 621,7)

5 EXEMPLE 27 : Benzhydryl carbonyl - abo - Leu - Trp - NH<sub>2</sub>

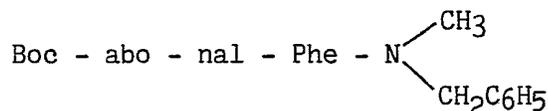
Spectre de masse (FAB) :  $MH^+$  :  $m/z$  = 648 (masse moléculaire : 647,8)

EXEMPLE 28 :



Spectre de masse (FAB) :  $MH^+$  :  $m/z$  = 703 (masse moléculaire : 702,9)

10 EXEMPLE 29 :

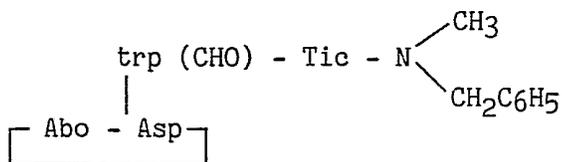


Spectre de masse (FAB) :  $MH^+$  :  $m/z$  = 703 (masse moléculaire : 702,9)

EXEMPLE 30 : H - trp -  $\psi(\text{CH}_2\text{S})$  - Phe - Abo - Phe - NH<sub>2</sub>

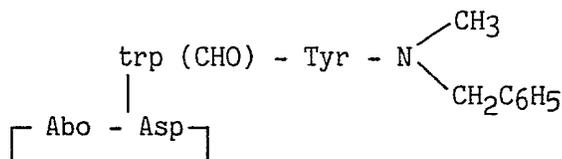
15 Les exemples suivants ont été préparés en procédant comme dans l'exemple 1.

EXEMPLE 31 :



Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 729 (masse moléculaire : 728,8)

**EXEMPLE 32 :**



5 Spectre de masse (FAB) : MH<sup>+</sup> : m/z = 733 (masse moléculaire : 732,8)

**ETUDE PHARMACOLOGIQUE  
DES DERIVES DE L'INVENTION**

**EXEMPLE 33 : Bio-essais sur le muscle lisse isolé**

10 Afin d'évaluer le potentiel antagoniste des neurokinines des  
composés de l'invention, trois préparations de muscle lisse ont été  
utilisées. Chacune de ces préparations, décrite comme présentant une bonne  
spécificité pour un type de récepteur aux neurokinines, a été réalisée  
conformément aux techniques suivantes décrites dans la littérature :

15 - veine cave de lapin pour l'étude du récepteur NK<sub>1</sub> selon D.REGOLI et  
Coll. (J. Cardiovasc. Pharmacol., sous presse) ;

- artère pulmonaire de lapin sans endothélium pour l'étude de récepteur  
NK<sub>2</sub> selon D.REGOLI et Coll. (European J. Pharmacol. 125, 37-44, 1985) ;

- veine porte de rat pour l'étude du récepteur NK<sub>3</sub> selon D.REGOLI et Coll.  
(European J. Pharmacol. 134, 321-326, 1986).

Le pouvoir antagoniste des composés de l'invention est exprimé sous forme de pA<sub>2</sub> tel que défini par O.ARUNLAKSHANA et H.O.SCHILD (Brit. J. Pharmacol., 14, 48-58, 1959).

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

EXEMPLE	pA <sub>2</sub>		
	NK <sub>1</sub>	NK <sub>2</sub>	NK <sub>3</sub>
1	6,46	4,86	4,86
5	7,16	5,70	4,86
6	6,87	< 5,17	4,87
7	6,87	4,87	4,87
15	6,02	4,72	4,72
24	7,34	4,86	5,04

5

Les composés de l'invention présentent une puissante activité antagoniste vis-à-vis des récepteurs NK<sub>1</sub>, avec, pour la plupart, une moindre activité pour les récepteurs NK<sub>2</sub> et NK<sub>3</sub>.

C'est le cas plus particulièrement du composé de l'exemple 24.

10

**EXEMPLE 34 : Activité in vivo. Test d'Eddy chez la souris.**

En raison de l'implication de la substance P dans la transmission de la douleur au niveau spinal (M. OTSUKA et S. KONISHI, TINS, 6, 317-320, 1983), l'activité pharmacologique in vivo des composés de l'invention a été recherchée chez la souris sur le test d'hyperalgésie thermique initialement décrit par N.B. EDDY et Coll. (J. Pharmacol. Exp. Ther., 107, 385-393, 1953). Ce test consiste à mesurer le temps de réaction à la chaleur déterminé par le léchage des pattes antérieures chez une souris (CD<sub>1</sub> mâle, Ch. River, 25-30 g) placée sur une plaque métallique chauffée à 55°C.

15

20

Les animaux ont été traités avec les composés d'invention, 5 minutes avant le passage sur la plaque chauffante par voie intraveineuse.

La moyenne des temps de réaction obtenue pour chaque lot traité (12 souris par lot) a été comparée à la moyenne du lot témoin correspondant. Les résultats sont exprimés sous forme de DE50 qui correspond à la dose augmentant de 50 % le temps de réaction.

5 Ces résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

EXEMPLE	Test d'Eddy chez la souris DE50 (mg/kg IV)
1	0,2
5	3,5
6	3,0
7	4,0
15	3,0
24	4,0
morphine	0,5

Les composés de l'invention présentent des propriétés antalgiques importantes. Le composé de l'exemple 1 possède plus particulièrement un pouvoir analgésique supérieur à celui de la morphine.

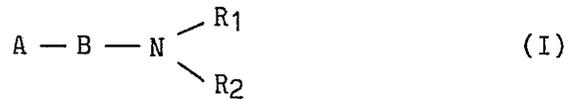
10 COMPOSITION PHARMACEUTIQUE

EXEMPLE 35 : Comprimé : formule de préparation pour 1000 comprimés dosés à 2 mg

Composé de l'exemple 1 . . . . .	2 g
Hydroxypropyl cellulose . . . . .	2 g
15 Amidon de blé . . . . .	10 g
Lactose . . . . .	100 g
Stéarate de magnésium . . . . .	3 g
Talc . . . . .	3 g

REVENDICATIONS

1/ Composés de formule (I) :



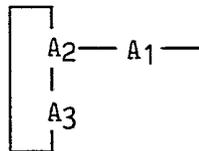
dans laquelle :

5 R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un groupement alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) linéaire ou ramifié, un groupement cycloalkyle (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>) ou un groupement benzyle,

B représente un résidu d'acide aminé aromatique,

A représente

10 \* soit un résidu peptidique de formule :



dans lequel :

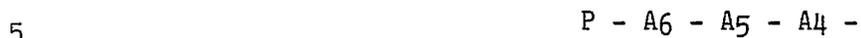
15 A<sub>1</sub> représente une liaison, un résidu tryptophane (Trp), un résidu tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)) ou tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)),

A<sub>2</sub> représente un résidu acide aspartique (Asp) ou acide glutamique (Glu),

20 A<sub>3</sub> représente un résidu (1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine-3-carbonyl (Tic), 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo), méthylphénylalanine (MePhe), arginine (Arg), arginine protégé par un radical nitro (Arg (NO<sub>2</sub>)), 6,7-dihydroxy-(1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine (Dht), spinacine (Spi), 4-hydroxyproline (Hyp) ou β-naphtylalanine (Nal),

étant entendu que la liaison peptidique (-CO-NH-) entre A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> ou entre A<sub>2</sub> et B dans le cas où A<sub>1</sub> est une liaison, peut être remplacée par une liaison pseudopeptidique choisie parmi -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S-,

\* soit un résidu peptidique de formule :



dans lequel :

10 A<sub>4</sub> représente un résidu 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo), leucine (Leu), β-naphtylalanine (Nal), tryptophane (Trp), tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)) ou tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)),

A<sub>5</sub> représente une liaison, un résidu phénylalanine (Phe), β-naphtylalanine (Nal) ou 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo),

15 A<sub>6</sub> représente une liaison, un résidu tryptophane (Trp), tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)), tryptophane protégé par un radical méthyle (Trp (CH<sub>3</sub>)) ou 2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl (Abo),

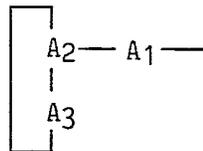
20 P représente un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur de la fonction amine tel que benzyloxycarbonyl (Z), tert-butoxycarbonyl (Boc), 3-indolylcarbonyl, benzhydrylcarbonyl ou 9-fluorénylméthylloxycarbonyl (Fmoc),

étant entendu que la liaison peptidique (-CO-NH-) entre A<sub>5</sub> et A<sub>6</sub>, dans le cas où A<sub>5</sub> et A<sub>6</sub> ne sont pas des liaisons, peut être remplacée par une liaison pseudopeptidique choisie parmi -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S-,

25 leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable, étant entendu que chaque amino-acide de la séquence peptidique est optiquement pur et que le carbone α de chaque amino-acide peut être de configuration D ou L.

2/ Composés selon la revendication 1 dans lesquels B représente un résidu phénylalanine (Phe), tyrosine (Tyr), (1,2,3,4)-tétrahydroisoquinoléine-3-carbonyl (Tic), tryptophane (Trp) ou tryptophane protégé par un radical formyle (Trp (CHO)), leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

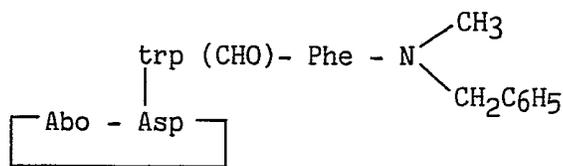
3/ Composés selon la revendication 1 dans lesquels A représente un résidu peptidique de formule :



selon la revendication 1, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

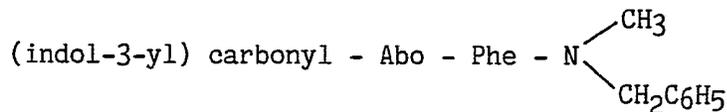
4/ Composés selon la revendication 1 dans lesquels A représente un résidu peptidique de formule P - A<sub>6</sub> - A<sub>5</sub> - A<sub>4</sub> - selon la revendication 1, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

5/ Composé selon la revendication 1 qui est le



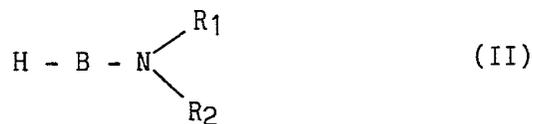
ses énantiomères, diastéréoisomères et épimères.

6/ Composé selon la revendication 1 qui est le

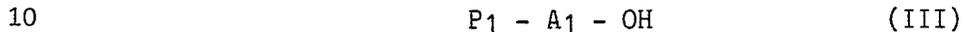


ses énantiomères, diastéréoisomères et épimères.

7/ Procédé de préparation des composés de formule (I) selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'on fait réagir un amide de formule (II), optiquement pur :



5 dans laquelle B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont la même signification que dans la formule (I),  
avec une deuxième amino-acide, optiquement pur, dont la fonction amine N-terminale est protégée, de formule (III) ou (IV), selon le composé de formule (I) que l'on souhaite obtenir :



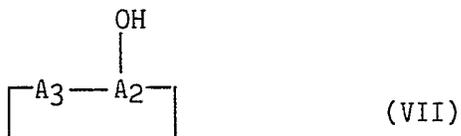
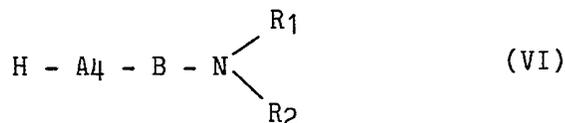
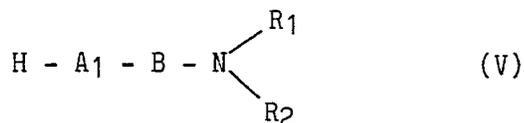
dans lesquelles :

15 P<sub>1</sub> représente un groupement protecteur choisi parmi benzyl-oxycarbonyl (Z), tert-butuloxycarbonyl (Boc), 9-fluorométhylcarbonyl (Fmoc),

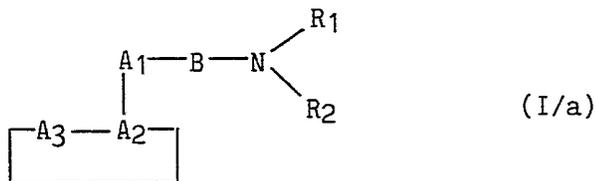
A<sub>1</sub> et A<sub>4</sub> ont la même signification que dans la formule (I),

20 en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique choisi parmi le couple dicyclohexylcarbodiimide (DCC) - hydroxybenzotriazole (HOBT), le benzotriazol-1-oxytris (diméthylamino) phosphonium hexafluorophosphate (BOP) ou encore le diphénylphosphorylazide (DPPA),  
pour conduire respectivement, après déprotection sélective de la fonction amine N-terminale, aux composés des formules (V) et (VI), selon le dérivé de formule (I) que l'on souhaite obtenir :

25 dans lesquelles A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont les mêmes significations que dans la formule (I),  
composé de formule (V) que l'on fait réagir avec un composé de formule (VII) :

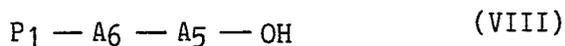


5 dans laquelle A<sub>2</sub> et A<sub>3</sub> ont la même signification que dans la formule (I)  
 (dérivé de formule (VII) lui-même obtenu par couplage peptidique classique  
 des amino-acides optiquement purs, A<sub>3</sub>-OH et A<sub>2</sub>-OH protégés, cyclisation en  
 dicétopipérazine correspondante par chauffage dans un solvant organique,  
 déprotection et purification),  
 en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique  
 10 décrit précédemment,  
 pour conduire à un composé de formule (I/a), cas particulier des composés  
 de formule (I),



15 dans laquelle A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont la même signification que dans  
 la formule (I),

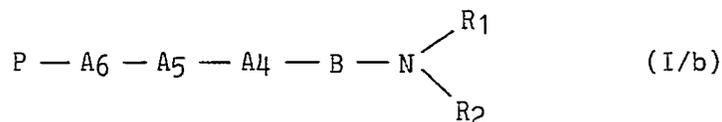
composé de formule (VI) que l'on fait réagir avec un composé de formule  
 (VIII) :



20 dans laquelle P<sub>1</sub> a la même signification que précédemment, A<sub>5</sub> et A<sub>6</sub> la  
 même signification que dans la formule (I),

(dérivé de formule (VIII), lui-même obtenu par couplage peptidique classique des amino-acides A<sub>5</sub>-OH et A<sub>6</sub>-OH protégés), en présence d'un réactif de couplage classique de la synthèse peptidique décrit précédemment,

5 pour conduire, après traitement usuel à un composé de formule (I/b), cas particulier des composés de formule (I),



dans laquelle A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, B, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et P ont la même signification que dans la formule (I),

10 composés de formule (I/a) ou (I/b), que l'on purifie par une technique classique de purification, que l'on transforme, le cas échéant, en leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable,

15 qui, lorsqu'ils contiennent une liaison pseudopeptique -CH<sub>2</sub>-NH- ou -CH<sub>2</sub>-S- sont préparés selon le procédé décrit précédemment,

l'introduction de la liaison -CH<sub>2</sub>-NH-, se faisant en préparant en solution l'aldéhyde P<sub>1</sub>-NH-CHR-CHO (P<sub>1</sub> = groupement protecteur choisi parmi Boc, Fmoc, Z) et en le condensant avec la chaîne peptidique croissante soit sur phase solide, soit en solution,

20 l'introduction de la liaison -CH<sub>2</sub>-S- se faisant en condensant le thiol de formule P<sub>1</sub>-NH-CHR-CH<sub>2</sub>SH, préparé à partir de l'alcool correspondant, sur le bromure de désamino-peptide C-terminal.

8/ Compositions pharmaceutiques contenant comme principe actif au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, seul ou en combinaison avec un ou plusieurs excipients ou véhicules inertes, non toxiques, pharmaceutiquement acceptables.

9/ Compositions pharmaceutiques selon la revendication 8 contenant au moins un principe actif selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 utiles comme antagonistes de substance P dans le traitement de la douleur, de l'inflammation, des troubles gastro-intestinaux, de l'asthme, des allergies et des maladies du système nerveux central.

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE**  
établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FR 9106721  
FA 457585

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D,X	EP-A-0 333 174 (FUJISAWA PHARM.CO.LTD.)	1,2,4, 7-9
Y	* revendications 1-8,14-18; exemples 3,4,8,14 * ---	1-3,7-9
D,X	EP-A-0'394 989 (FUJISAWA PHARM.CO.LTD.)	1,2,4, 7-9
Y	* page 12, ligne 23 - ligne 26; revendications 1,8-15 * ---	1-3,7-9
Y	DD-A-150 199 (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) * le document en entier * ---	1-3,7-9
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 94, 1981, Columbus, Ohio, US; abstract no. 175484D, I.SCHOEN C.S.: 'FORMATION OF IMIDES IN STRONGLY ACIDIC MEDIA AND PARTICIPATION OF THE IMIDE IN TRANSFORMATION TO PIPERAZINE-2,5-DIONE DERIVATIVES IN NEUTRAL MEDIA' page 770 ; * abrégé *  -----	1-3,7
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C07K A61K
Date d'achèvement de la recherche <b>20 JANVIER 1992</b>		Examineur <b>GROENENDIJK M.S.M.</b>
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		