

12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22) Date de dépôt : 09.11.01.

30) Priorité :

43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 16.05.03 Bulletin 03/20.

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

60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71) Demandeur(s) : AVENTIS PHARMA SA Société ano-
nyme — FR.

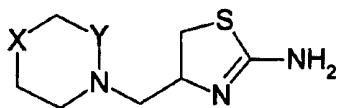
72) Inventeur(s) : BIGOT ANTONY, CARRY JEAN
CHRISTOPHE et MIGNANI SERGE.

73) Titulaire(s) :

74) Mandataire(s) :

54) UTILISATION DE DERIVES DE 2-AMINO-THIAZOLINE COMME INHIBITEURS DE NO-SYNTHESE
INDUCTIBLE.

57) La présente invention concerne l'utilisation de dérivés
2-amino-thiazoline de formule (I)



dans laquelle

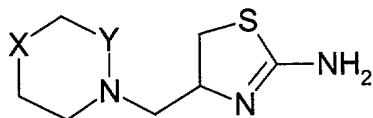
soit Y est un méthylène (CH₂) et X est choisi parmi les
groupements suivants: O, NH, N-Alkyle (C1-C4), N-Bn, N-
Ph, N(2-Py), N(3-Py), N(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimi-
dyle, S, SO, SO₂, CH₂ ou CHPh;

soit Y est un carboxy (C=O) et X est choisi parmi les
groupements suivants: NH, N-Ph, N(2-Py), N(3-Py), N(4-
Py), N-2-pyrimidyle ou N-5-pyrimidyle ou leurs sels pharma-
ceutiquement acceptables comme inhibiteurs de NO-syn-
thase inductible.



UTILISATION DE DERIVES DE 2-AMINO-THIAZOLINE
 COMME INHIBITEURS DE NO-SYNTHASE INDUCTIBLE

La présente invention concerne l'utilisation de dérivés de 2-amino-thiazoline de
 5 formule :



(I)

ou leurs sels pharmaceutiquement acceptables comme inhibiteurs de NO-synthase inductible.

L'invention a pour objet l'utilisation des dérivés de 2-amino-thiazoline de formule (I)
 10 et leurs sels pharmaceutiquement acceptables pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à prévenir et traiter les maladies dans lesquelles une production anormale de monoxyde d'azote (NO) par induction de NO-synthase inductible (NOS-2 ou iNOS) est impliquée, les compositions pharmaceutiques contenant les nouveaux dérivés de 2-amino-thiazoline et leurs sels
 15 pharmaceutiquement acceptables et les dérivés nouveaux de 2-amino-thiazoline et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

Le monoxyde d'azote (NO) est un radical diffusible impliqué dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Il est synthétisé par oxydation de la L-arginine, une réaction catalysée par une famille d'enzymes appelée synthase du
 20 monoxyde d'azote ou NO-Synthase (NOS), référencée dans le système international de nomenclature des enzymes sous le numéro E.C. 1.14.13.39.

Trois isoformes de NOS, dont deux sont constitutives et une inductible, sont connues :

- une NOS neuronale (NOS-1 ou nNOS) a été isolée et clonée à l'origine à partir de
 25 tissu nerveux où c'est une enzyme constitutive. La NOS-1 produit du NO en réponse à divers stimuli physiologiques tels que l'activation de récepteurs membranaires selon un mécanisme dépendant du calcium et de la calmoduline.

- une NOS inductible (NOS-2 ou iNOS) peut être induite en réponse à des stimuli immunologiques tels que par exemple des cytokines ou des antigènes bactériens dans différentes cellules tels que par exemple les macrophages, les cellules endothéliales, les hépatocytes, les cellules gliales, ainsi qu'un grand nombre d'autres types de
5 cellules. L'activité de cette isoforme n'est pas régulée par le calcium. C'est pourquoi une fois induite elle produit de grandes quantités de NO sur des durées prolongées.

- une NOS endothéliale (NOS-3 ou eNOS) est constitutive et calcium/calmoduline dépendante. Elle a été identifiée à l'origine dans les cellules de l'endothélium vasculaire où elle génère du NO en réponse à des stimuli physiologiques tels que
10 l'activation de récepteurs membranaires.

Le NO produit par les isoformes constitutives neuronales et endothéliales (NOS-1 et NOS-3) est généralement impliqué dans des fonctions de signalisation intercellulaire. Par exemple, les cellules endothéliales qui tapissent la paroi interne des vaisseaux sanguins induisent la relaxation des cellules musculaires lisses sous-jacentes *via* la
15 production de NO. Il contribue ainsi à la régulation de la pression artérielle.

Le NO produit en grande quantité par l'isoforme inductible NOS-2 est, entre autre, impliqué dans les phénomènes pathologiques associés aux processus inflammatoires aigus et chroniques dans une grande variété de tissu et d'organes.

Une production excessive de NO par induction de NOS-2 participe ainsi de
20 pathologies dégénératives du système nerveux comme par exemple la sclérose en plaques, l'ischémie cérébrale focale ou globale, les traumatismes cérébraux ou spinaux, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique, la migraine, la dépression, la schizophrénie, l'anxiété, l'épilepsie. De même, en dehors du système nerveux central, l'induction de
25 NOS-2 est impliquée dans de nombreuses pathologies à composantes inflammatoires comme par exemple le diabète, l'athérosclérose, la myocardite, l'arthrite, l'arthrose, l'asthme, le syndrome du colon irritable, la maladie de Crohn, la péritonite, le reflux gastro-oesophagien, l'uvéite, le syndrome de Guillain-Barré, la glomérulo-néphrite, le lupus érythémateux, le psoriasis. La NOS-2 a également été impliquée dans la
30 croissance de certaines formes de tumeurs comme par exemple des épithéliomes, des adénocarcinomes ou des sarcomes, et dans les infections par des bactéries intracellulaires ou extracellulaires, Gram-plus ou Gram-moins.

- Dans toutes les situations où une surproduction de NO est néfaste, il apparaît donc souhaitable de diminuer la production de NO par l'administration de substances capables d'inhiber la NOS-2. Cependant, compte tenu des rôles physiologiques importants joués par l'isoforme constitutive NOS-3 en particulier dans la régulation de la pression artérielle, il est primordial que l'inhibition de l'isoforme NOS-2 affecte le moins possible l'isoforme NOS-3. En effet, il est connu que l'administration d'inhibiteurs non-sélectifs des isoformes de NOS conduit à une vasoconstriction et à un accroissement de la pression artérielle (Moncada, S., Palmer, R.M.J. et Higgs, E.A., Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine : a pathway for the regulation of cell function and communication, *Biochem. Pharmacol.*, 1989, 38: 1709-1715). Ces effets sur le système cardiovasculaire sont délétères dans la mesure où ils diminuent l'apport en nutriments aux tissus. Par conséquent, la présente invention concerne des composés présentant une activité inhibitrice vis-à-vis de la NOS-2 significativement plus puissante que son activité inhibitrice vis-à-vis de la NOS-3.
- 15 Des inhibiteurs de NOS dérivés de thiazoline sont notamment décrits dans les demandes de brevet WO94/12165, WO95/11231 et WO96/14842.

La présente invention concerne l'utilisation des dérivés de 2-amino-thiazoline de formule (I) dans laquelle :

- 20 soit Y est un méthylène (CH₂) et X est choisi parmi les groupement suivants : O, NH, N-Alkyle(C1-C4), N-Bn, N-Ph, N-(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimidyle, S, SO, SO₂, CH₂ ou CHPh ;

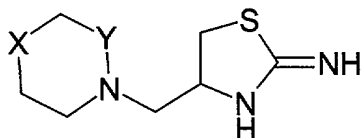
- soit Y est un carboxy (C=O) et X est choisi parmi les groupements suivants : NH, N-Ph, N-(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimidyle
 25 pour la préparation de médicaments utiles pour prévenir ou traiter les maladies dans lesquelles une production anormale de monoxyde d'azote (NO) par induction de NO-synthase inductible (NOS-2 ou iNOS) est impliquée.

Dans les définitions précédentes et celles qui suivent, les radicaux alkyle contiennent 1 à 4 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée. Les abréviations Bn, Py, Ph signifient respectivement benzyle, pyridyle, phényle.

- 30 Les composés de formule (I) présentent un ou plusieurs carbones asymétriques et peuvent donc se présenter sous forme de racémique, d'énantiomères et de

diastéréoisomères; ceux-ci font également partie de l'invention ainsi que leurs mélanges.

Par ailleurs les composés de formule (I) peuvent se présenter sous la forme tautomère (Ia) :



5

(Ia)

Ces tautomères font également partie de l'invention.

Parmi les composés de formule (I) utiles selon l'invention on peut citer les composés suivants:

4-(morpholin-4-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine

10 4-(pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine

4-(4-méthyl-pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine

leurs racémiques, énantiomères, diastéréoisomères, tautomères ainsi que leurs sels pharmaceutiquement acceptables,

15 Parmi les composés utiles selon l'invention et particulièrement préférés on peut citer le composé suivant :

4-(4-méthyl-pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine

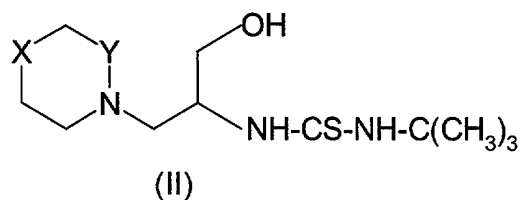
son racémique, ses énantiomères, tautomères ainsi que leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

20 L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques contenant en tant que principe actif un dérivé de formule (I) pour lequel soit Y est un méthylène (CH₂) et X est choisi parmi les groupement suivants : O, NH, N-Alkyle (C1-C4), N-Bn, N-Ph, N-(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimidyle, S, SO, SO₂, CH₂

ou CHPh ; soit Y est un carboxy (C=O) et X est choisi parmi les groupements suivants : NH, N-Ph, N-(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimidyle

ainsi que ses racémiques, énantiomères, diastéréoisomères et leurs mélanges, son tautomère et ses sels pharmaceutiquement acceptables.

- 5 Les composés de formule (I) peuvent être préparés par cyclisation d'un dérivé de formule :

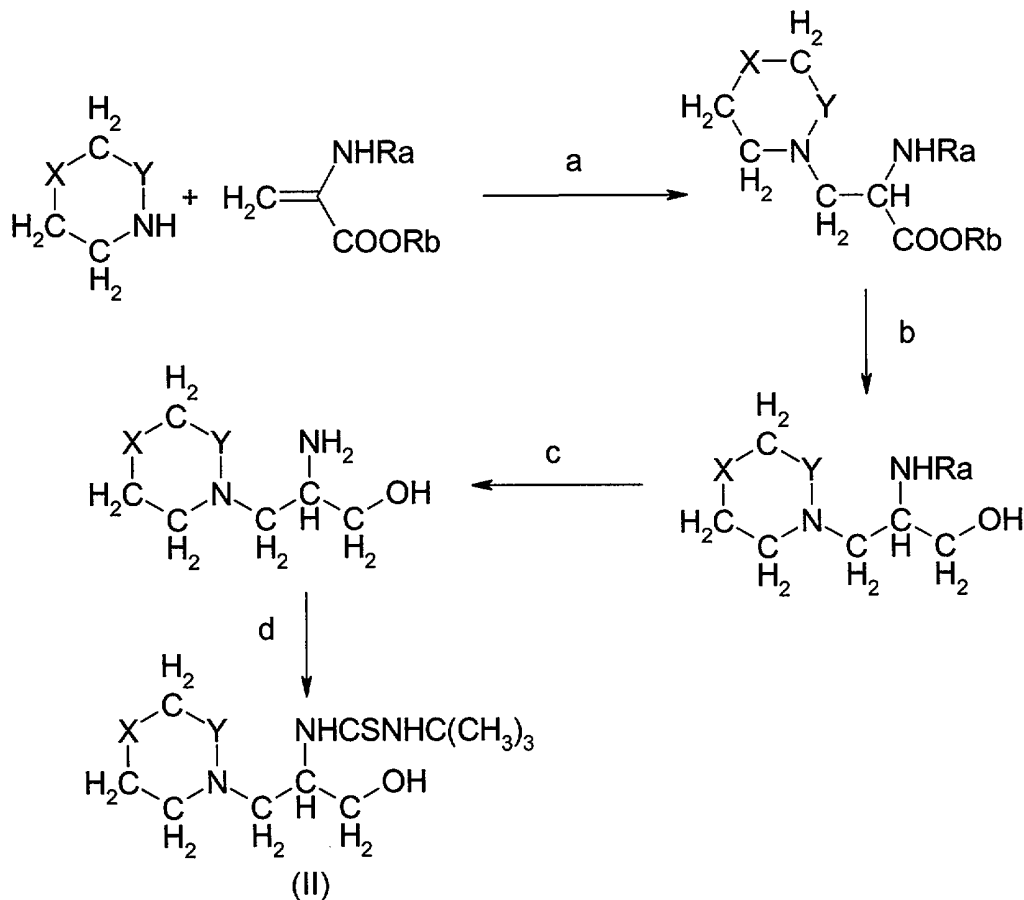


dans laquelle X et Y ont les mêmes significations que dans la formule (I).

- 10 Cette cyclisation s'effectue généralement au moyen d'un acide tel que l'acide chlorhydrique, en milieu aqueux, à une température voisine de 100°C. De préférence, on utilise l'acide chlorhydrique 6N.

Les dérivés de formule (II) peuvent être obtenus selon le schéma réactionnel suivant :

6



dans ces formules X et Y ont les mêmes significations que dans la formule (I), Ra est un groupe protecteur de la fonction amine tel que ceux décrits par T.W. GREENE, Protective groups in Organic Synthesis, J. Wiley-Interscience Publication (1991), de préférence un radical acétyle ou *tert*-butoxycarbonyle et Rb est un radical alkyle (1-4C) ou alcoxycarbonyle, de préférence, méthyle, éthyle ou isobutyloxycarbonyle.

La réaction a s'effectue généralement en présence d'un acide de Lewis tel que le trichlorure de fer (III), au sein d'un solvant tel que le dichlorométhane ou l'acétonitrile, à une température comprise entre 10°C et la température d'ébullition du milieu réactionnel. Lorsque X représente NH, X peut être mono-protégé au préalable par un groupe protecteur de la fonction amine tel que ceux décrits par T.W. GREENE, Protective groups in Organic Synthesis, J. Wiley-Interscience Publication (1991), de préférence un radical *tert*-butoxycarbonyle

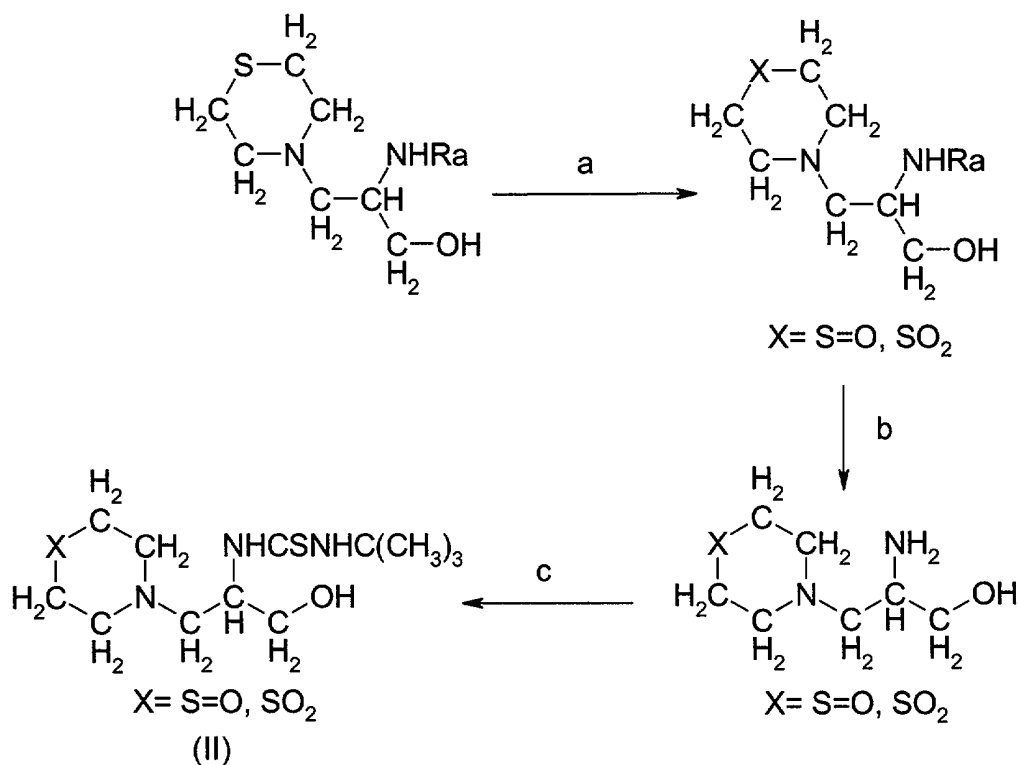
La réaction de réduction b s'effectue de préférence au moyen d'un hydrure tel que le borohydrure de sodium ou l'aluminohydrure de lithium, au sein d'un alcool

aliphatique (1-4C) ou du tétrahydrofurane, à une température comprise entre 0°C et 30°C.

La réaction de déprotection c s'effectue avec un agent de déprotection pour les composés pour lesquels Ra est un groupe protecteur de la fonction amine par toute
5 méthode de déprotection connue de l'homme de l'art et notamment celles décrites par T.W. GREENE, Protective groups in Organic Synthesis, J. Wiley-Interscience Publication (1991). De préférence lorsque le groupe protecteur est un radical acétyle cette réaction s'effectue au moyen d'acide chlorhydrique aqueux, à une température voisine de 100°C. Lorsque le groupe protecteur est un radical *tert*-butoxycarbonyle
10 cette réaction s'effectue au moyen d'acide chlorhydrique au sein du dioxanne, à une température voisine de 20°C.

La réaction d s'effectue par action du *tert*-butyl isothiocyanate, au sein d'un solvant inerte tel qu'un alcool aliphatique (1-4C) (méthanol, éthanol de préférence), éventuellement en présence d'une amine tertiaire telle que la triéthylamine, à une
15 température comprise entre 20°C et la température d'ébullition du milieu réactionnel.

Les composés de formule (I) pour lesquels X représente soit SO, soit SO₂ peuvent être obtenus par oxydation directe du composé de formule (I) pour lequel X représente S. Cette oxydation s'effectue selon les méthodes connues d'oxydation des dérivés soufrés comme celles décrites par M. HUDLICKY, Oxidation in Organic
20 Chemistry, ACS Monograph, 186, 252-263 (1990). Par exemple, on opère par action d'un peracide organique ou un sel d'un peracide organique (acide percarboxylique ou persulfonique, notamment l'acide perbenzoïque, l'acide 3-chloro-perbenzoïque, l'acide 4-nitroperbenzoïque, l'acide peracétique, l'acide pertrifluoroacétique, l'acide performique, l'acide monoperphthalique) ou un peracide minéral ou un sel d'un
25 peracide minéral (par exemple l'acide periodique ou persulfurique), au sein d'un solvant inerte tel qu'un solvant chloré (chloroforme, dichlorométhane par exemple), à une température comprise entre 0 et 20°C. On peut utiliser également le peroxyde d'hydrogène ou un periodate (periodate de sodium par exemple), au sein d'un solvant inerte tel qu'un alcool aliphatique inférieur, l'eau ou un mélange de ces solvants, à
30 une température comprise entre 0 et 20°C. Ces produits peuvent être aussi préparés à partir des composés de formule (II) correspondants, eux-mêmes obtenus selon le schéma réactionnel suivant :



La réaction d'oxydation a s'effectue selon les méthodes connues d'oxydation des dérivés soufrés comme celles décrites ci-dessus.

La réaction de déprotection b pour les composés pour lesquels Ra est un groupe protecteur de la fonction amine s'effectue par toute méthode de déprotection connue de l'homme de l'art et notamment celles décrites par T.W. GREENE, Protective groups in Organic Synthesis, J. Wiley-Interscience Publication (1991). De préférence lorsque le groupe protecteur est un radical acétyle cette réaction s'effectue au moyen d'acide chlorhydrique aqueux, à une température voisine de 100°C. Lorsque le groupe protecteur est un radical *tert*-butoxycarbonyle cette réaction s'effectue au moyen d'acide chlorhydrique au sein du dioxanne, à une température voisine de 20°C.

La réaction c s'effectue par action du *tert*-butyl isothiocyanate, au sein d'un solvant inerte tel qu'un alcool aliphatique (1-4C) (méthanol, éthanol de préférence), éventuellement en présence d'une amine tertiaire telle que la triéthylamine, à une température comprise entre 20°C et la température d'ébullition du milieu réactionnel.

Les composés de formule (I) sont isolés et peuvent être purifiés par les méthodes connues habituelles, par exemple par cristallisation, chromatographie ou extraction.

Les énantiomères des composés de formule (I) peuvent être obtenus par dédoublement des racémiques par exemple par chromatographie sur colonne chirale selon PIRCKLE W.H. et coll., *asymmetric synthesis*, vol. 1, Academic Press (1983) ou par formation de sels ou par synthèse à partir des précurseurs chiraux. Les diastéréoisomères peuvent être préparés selon les méthodes classiques connues (crystallisation, chromatographie ou à partir des précurseurs chiraux).

Les composés de formule (I) peuvent être éventuellement transformés en sels d'addition avec un acide minéral ou organique par action d'un tel acide au sein d'un solvant organique tel qu'un alcool, une cétone, un éther ou un solvant chloré. Ces sels font également partie de l'invention.

Comme exemples de sels pharmaceutiquement acceptables, peuvent être cités les sels suivants : benzènesulfonate, bromhydrate, chlorhydrate, citrate, éthanesulfonate, fumarate, gluconate, iodate, iséthionate, maléate, méthanesulfonate, méthylène-bis-b-oxynaphtoate, nitrate, oxalate, pamoate, phosphate, salicylate, succinate, sulfate, tartrate, théophyllinacétate et p-toluènesulfonate.

Les composés de formule (I) sont des inhibiteurs de NO-synthase inductible ou NO-synthase de type 2 (NOS-2) et sont ainsi utiles pour la prévention et le traitement des désordres liés à une production excessive de NO telles que la sclérose en plaques, l'ischémie cérébrale focale ou globale, les traumatismes cérébraux ou spinaux, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique, la migraine, la dépression, la schizophrénie, l'anxiété, l'épilepsie, le diabète, l'athérosclérose, la myocardite, l'arthrite, l'arthrose, l'asthme, le syndrome du colon irritable, la maladie de Crohn, la péritonite, le reflux gastro-oesophagien, l'uveite, le syndrome de Guillain-Barré, la glomerulo-néphrite, le lupus erythémateux, le psoriasis, la croissance de certaines formes de tumeurs comme par exemple les épithéliomes, les adénocarcinomes ou les sarcomes, et les infections par des bactéries intracellulaires ou extracellulaires, gram-plus ou gram-moins.

Leurs activités en tant qu'inhibiteurs de NOS-2 et NOS-3 ont été déterminées par la mesure de la conversion de [^3H]-L-arginine en [^3H]-L-citrulline par, respectivement, une fraction enzymatique NOS-2 extraite de poumons de rats ou de souris préalablement traités par des lipopolysaccharides (10 mg/kg i.p. 6 heures avant le recueil de tissu) et par une préparation commerciale de NOS-3 recombinante de bœuf. Les composés ont été incubés pendant 20 à 30 minutes à 37°C en présence de 5 μM

(pour activité NOS-2) ou 10 μM (pour activité NOS-3) de [^3H]-L-arginine, 1 mM de NADPH, 15 μM de tétrahydrobiopterine, 1 μM de FAD, 0.1 mM de DTT dans un tampon HEPES (50 mM, pH 6,7) contenant 10 $\mu\text{g/ml}$ de calmoduline et 1.25 mM de CaCl_2 lorsque l'activité NOS-3 a été mesurée. L'incubation a été arrêtée par addition de
 5 tampon HEPES froid (100 mM, pH 5,5) contenant 10 mM d'EGTA et 500 mg d'une résine cationique échangeuse d'ion (AG50W-X8, contre-ion : Na^+) pour séparer la [^3H]-L-arginine de la [^3H]-L-citrulline. Après 5 min de décantation, la radioactivité restant dans la phase liquide a été mesurée dans un compteur à scintillation en présence d'un liquide scintillant approprié. Le rendement de la récupération de la L-
 10 [^3H]citrulline formée a pu être estimée en utilisant de la L-[ureido- ^{14}C]-citrulline comme standard externe.

L'activité NOS-2 ou NOS-3 a été exprimée en picomole(s) de [^3H]-L-citrulline formée par minute et par milligramme de protéine contenu dans le milieu réactionnel.

Dans ce test sur l'enzyme NOS-2, la CI_{50} des composés de formule (I) est inférieure
 15 ou égale à 10 μM .

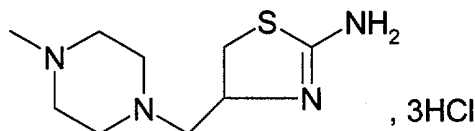
La sélectivité est mesurée par le rapport CI_{50} NOS-3 / CI_{50} NOS-2. Cette sélectivité est supérieure à 45.

Les composés de formule (I) présentent une toxicité faible. Leur DL_{50} est supérieure à 40 mg/kg par voie sous cutanée chez la souris.

20 Les exemples suivants illustrent l'invention.

Exemple 1 :

4-(4-Méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-thiazol-2-ylamine trichlorhydrate



25

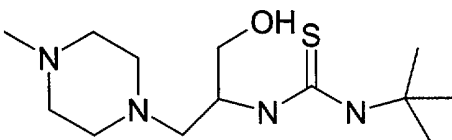
Une suspension de 0,42 g de *N*-(*tert*-butyl)-*N'*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl]-thiourée dans 3,9 cm^3 d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6N est chauffée à une température voisine de 100°C pendant 5 heures.

30 Après refroidissement, le milieu réactionnel est ensuite concentré à sec sous pression

réduite (2 kPa) à une température voisine de 55°C. La meringue obtenue est séchée dans un dessiccateur sous vide (2 kPa) pendant 4 heures. On obtient ainsi 0,47 g de 4-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-thiazol-2-ylamine, trichlorhydrate sous forme d'une meringue de couleur blanc cassé très hygroscopique. Spectre de R.M.N.

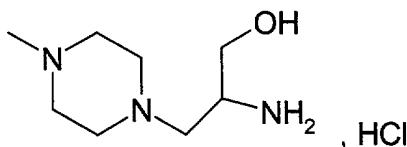
- 5 ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ d6 avec ajout de quelques gouttes de CD_3COOD d4, δ en ppm) : de 2,55 à 2,90 (mf : 4H) ; 2,80 (s : 3H) ; de 2,95 à 3,30 (mf : 4H) ; de 3,30 à 3,60 (mf : 2H) ; 3,40 (dd, $J = 11,5$ et $5,5$ Hz : 1H) ; 3,69 (dd, $J = 11,5$ et $7,5$ Hz : 1H) ; 4,51 (mt : 1H).

10 *N*-(*tert*-Butyl)-*N'*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl]-thiourée



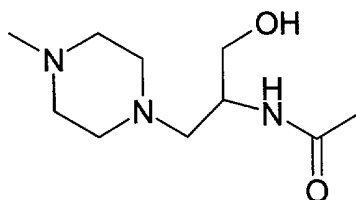
- 15 A une solution de 1 g de 2-amino-3-(4-méthyl-pipérazin-1-yl)-1-propanol chlorhydrate dans 20 cm³ d'éthanol anhydre et 1,43 cm³ de triéthylamine, on ajoute 0,78 cm³ de *tert*-butylisothiocyanate. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère inerte à une température voisine de 20°C pendant 42 heures puis est chauffé à une température voisine de 50°C pendant 1 heure 30 min. Après refroidissement à une température voisine de 20°C, le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite
- 20 (2 kPa) à une température voisine de 30°C. Le résidu d'évaporation est repris dans 10 cm³ d'eau et 40 cm³ de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite par 2 fois 30 cm³ de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées par 15 cm³ d'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis évaporées sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 20°C. On obtient ainsi 0,42 g de *N*-(*tert*-butyl)-
- 25 *N'*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl]thiourée, sous forme d'une meringue blanche. Spectre infra-rouge entre lamelles de KBr 3279 ; 3075 ; 2939 ; 2806 ; 1533 ; 1459 ; 1359 ; 1295 ; 1204 ; 1010 et 821 cm⁻¹.

30 2-Amino-3-(4-méthyl-pipérazin-1-yl)-1-propanol chlorhydrate



- Une suspension de 0,89 g de *N*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl] acétamide dans 10,3 cm³ d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6N est
- 5 chauffée à une température voisine de 100°C pendant 3 heures. Après refroidissement à une température voisine de 60°C, le milieu réactionnel est filtré et le filtrat est évaporé sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 60°C. On obtient ainsi 1 g de 2-amino-3-(4-méthyl-pipérazinyl)-1-propanol, chlorhydrate sous forme d'une meringue collante de couleur beige.
- 10 Spectre IR (KBr) 3337 ; 2955 ; 2637 ; 2522 ; 1617 ; 1457 ; 1062 ; 1009 et 962 cm⁻¹.

N-[2-Hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl] acétamide

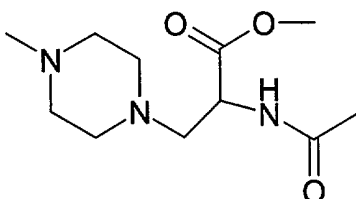


15

- Une solution sous atmosphère inerte de 3,27 g de 2-(acétylamino)-3-(4-méthyl-pipérazin-1-yl)propanoate de méthyle dans 100 cm³ de méthanol anhydre est refroidie à une température voisine de 10°C, puis on ajoute par spatulées 0,76 g de borohydrure de sodium. Le mélange réactionnel est agité pendant 5 heures à une
- 20 température voisine de 20°C, puis on ajoute de nouveau 0,26 g de borohydrure de sodium et l'agitation est poursuivie pendant 38 heures. On coule ensuite 5 cm³ d'eau sur la masse réactionnelle qui est ensuite concentrée sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 30°C. La pâte résiduelle obtenue est triturée avec du dichlorométhane et l'insoluble est filtré. Le filtrat est concentré sous pression réduite
- 25 (2 kPa) à une température voisine de 20°C. Le résidu est purifiée par chromatographie sous pression d'argon (60 kPa), sur une colonne de gel de silice (granulométrie 40-63 μm ; diamètre 5 cm ; hauteur 19 cm), en éluant par des mélanges successifs de dichlorométhane-méthanol-ammoniaque à 20% (98/2/0, 95/5/0,1, 90/10/0,2, 80/20/0,25, 50/50/0,25 en volumes). Les fractions contenant le
- 30 produit attendu sont réunies et concentrées sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 0,92 g de *N*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-

pipérazin-1-ylméthyl)éthyl] acétamide, sous forme d'un liquide jaune. Spectre IR CH_2Cl_2 3621; 3429; 3352; 2944; 2803; 1657; 1513; 1460; 1284; 1050; 1011 et 816 cm^{-1} .

5 2-(Acétylamino)-3-(4-méthyl-pipérazin-1-yl)propanoate de méthyle



A une solution de 8,57 g de 2-acétamidoacrylate de méthyle dans 500 cm^3 de dichlorométhane agitée sous atmosphère inerte, on ajoute $6,65 \text{ cm}^3$ de *N*-méthylpipérazine puis 0,97 g de trichlorure de fer et l'ensemble est agité au voisinage de 20°C pendant 66 heures. On coule alors 300 cm^3 d'une solution aqueuse de sulfate de sodium sur le mélange réactionnel qui est agité vivement puis filtré sur de la Célite. Après décantation, la phase organique est séchée sur du sulfate de sodium, filtrée puis concentrée à sec sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner un liquide de couleur orangée. La phase aqueuse est extraite par 3 fois 150 cm^3 de dichlorométhane et tous les extraits organiques sont réunis, séchés sur du sulfate de sodium, puis concentrés sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 20°C pour donner une huile jaune. Les deux intermédiaires issus des deux phases organiques sont réunis et purifiés par chromatographie sous pression d'argon (50 kPa), sur une colonne de gel de silice (granulométrie 40-63 μm ; diamètre 5 cm ; hauteur 25 cm), en éluant par des mélanges successifs de dichlorométhane-méthanol-ammoniaque à 20% (99/1/0, 97/3/0, 90/10/0,25, 80/20/0,25 en volumes). Les fractions contenant le produit attendu sont réunies et concentrées sous pression réduite (2 kPa) à une température voisine de 30°C . On obtient ainsi 3,3 g de 2-(acétylamino)-3-(4-méthyl-pipérazinyl)propanoate de méthyle sous forme d'un liquide jaune. Spectre IR CCl_4 3437; 3318; 2941; 2798; 1749; 1685; 1499; 1458; 1374; 1286; 1204; 1168 et 1014 cm^{-1} .

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont constitués par un composé de formule (I) ou un isomère ou un tautomère ou un sel d'un tel composé, à l'état pur ou sous forme d'une composition dans laquelle il est associé à tout autre produit pharmaceutiquement compatible, pouvant être inerte ou physiologiquement actif. Les

médicaments selon l'invention peuvent être employés par voie orale, parentérale, rectale ou topique.

Comme compositions solides pour administration orale, peuvent être utilisés des comprimés, des pilules, des poudres (capsules de gélatine, cachets) ou des granulés.

5 Dans ces compositions, le principe actif selon l'invention est mélangé à un ou plusieurs diluants inertes, tels que amidon, cellulose, saccharose, lactose ou silice, sous courant d'argon. Ces compositions peuvent également comprendre des substances autres que les diluants, par exemple un ou plusieurs lubrifiants tels que le stéarate de magnésium ou le talc, un colorant, un enrobage (dragées) ou un vernis.

10 Comme compositions liquides pour administration orale, on peut utiliser des solutions, des suspensions, des émulsions, des sirops et élixirs pharmaceutiquement acceptables contenant des diluants inertes tels que l'eau, l'éthanol, le glycérol, les huiles végétales ou l'huile de paraffine. Ces compositions peuvent comprendre des substances autres que les diluants, par exemple des produits mouillants, édulcorants,
15 épaississants, aromatisants ou stabilisants.

Les compositions stériles pour administration parentérale, peuvent être de préférence des solutions aqueuses ou non aqueuses, des suspensions ou des émulsions. Comme solvant ou véhicule, on peut employer l'eau, le propylèneglycol, un polyéthylèneglycol, des huiles végétales, en particulier l'huile d'olive, des esters organiques injecta-
20 bles, par exemple l'oléate d'éthyle ou d'autres solvants organiques convenables. Ces compositions peuvent également contenir des adjuvants, en particulier des agents mouillants, isotonisants, émulsifiants, dispersants et stabilisants. La stérilisation peut se faire de plusieurs façons, par exemple par filtration aseptisante, en incorporant à la composition des agents stérilisants, par irradiation ou par chauffage. Elles peuvent
25 également être préparées sous forme de compositions solides stériles qui peuvent être dissoutes au moment de l'emploi dans de l'eau stérile ou tout autre milieu stérile injectable.

Les compositions pour administration rectale sont les suppositoires ou les capsules rectales qui contiennent, outre le produit actif, des excipients tels que le beurre de cacao, des glycérides semi-synthétiques ou des polyéthylèneglycols.
30

Les compositions pour administration topique peuvent être par exemple des crèmes, lotions, collyres, collutoires, gouttes nasales ou aérosols.

En thérapeutique humaine, les composés selon l'invention sont particulièrement utiles pour le traitement et/ou la prévention de la sclérose en plaques, l'ischémie cérébrale focale ou globale, les traumatismes cérébraux ou spinaux, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique, la migraine, la dépression, la schizophrénie, l'anxiété, l'épilepsie, le diabète, l'athérosclérose, la myocardite, l'arthrite, l'arthrose, l'asthme, le syndrome du colon irritable, la maladie de Crohn, la péritonite, le reflux gastro-oesophagien, l'uvéite, le syndrome de Guillain-Barré, la glomérulo-néphrite, le lupus érythémateux, le psoriasis, la croissance de certaines formes de tumeurs comme par exemple les épithéliomes, les adénocarcinomes ou les sarcomes, et les infections par des bactéries intracellulaires ou extracellulaires, Gram-plus ou Gram-moins.

Les doses dépendent de l'effet recherché, de la durée du traitement et de la voie d'administration utilisée; elles sont généralement comprises entre 1 mg et 100 mg par jour par voie orale pour un adulte avec des doses unitaires allant de 0,5 mg à 50 mg de substance active.

D'une façon générale, le médecin déterminera la posologie appropriée en fonction de l'âge, du poids et de tous les autres facteurs propres au sujet à traiter.

Les exemples suivants illustrent des compositions selon l'invention :

EXEMPLE A

On prépare, selon la technique habituelle, des gélules dosées à 50 mg de produit actif ayant la composition suivante :

	- Composé de formule (I).....	50 mg
	- Cellulose.....	18 mg
	- Lactose.....	55 mg
25	- Silice colloïdale.....	1 mg
	- Carboxyméthylamidon sodique.....	10 mg
	- Talc.....	10 mg
	- Stéarate de magnésium.....	1 mg

EXEMPLE B

On prépare selon la technique habituelle des comprimés dosés à 50 mg de produit actif ayant la composition suivante :

	- Composé de formule (I).....	50 mg
	- Lactose.....	104 mg
5	- Cellulose.....	40 mg
	- Polyvidone.....	10 mg
	- Carboxyméthylamidon sodique.....	22 mg
	- Talc.....	10 mg
	- Stéarate de magnésium.....	2 mg
10	- Silice colloïdale.....	2 mg
	- Mélange d'hydroxyméthylcellulose, glycérine, oxyde de titane (72-3,5-24,5) q.s.p. 1 comprimé pelliculé terminé à	245 mg

EXEMPLE C

On prépare une solution injectable contenant 10 mg de produit actif ayant la composition suivante :

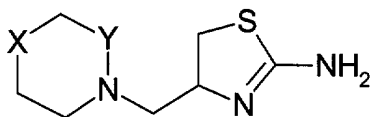
	- Composé de formule (I).....	10 mg
	- Acide benzoïque.....	80 mg
	- Alcool benzylique.....	0,06 ml
	- Benzoate de sodium.....	80 mg
20	- Ethanol à 95 %.....	0,4 ml
	- Hydroxyde de sodium.....	24 mg
	- Propylène glycol.....	1,6 ml
	- Eau.....q.s.p.	4 ml

La présente invention concerne également la méthode de prévention et de traitement des maladies dans lesquelles une production anormale de monoxyde d'azote (NO) par induction de NO-synthase inductible (NOS-2 ou iNOS) est impliquée par administration d'un composé de formule (I) ses racémiques, énantiomères, diastéréoisomères et leurs mélanges, son tautomère et ses sels pharmaceutiquement acceptables.

30

REVENDEICATIONS

1 Composés de formule (I)



(I)

dans laquelle

- 5 soit Y est un méthylène (CH₂) et X est choisi parmi les groupement suivants : O, NH, N-Alkyle(C1-C4), N-Bn, N-Ph, N(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle, N-5-pyrimidyle, S, SO, SO₂, CH₂ ou CHPh ;
- soit Y est un carboxy (C=O) et X est choisi parmi les groupements suivants : NH, N-Ph, N-(2-Py), N-(3-Py), N-(4-Py), N-2-pyrimidyle ou N-5-pyrimidyle
- 10 étant entendu que les radicaux alkyle(C1-C4) renferment 1 à 4 carbones en chaîne droite ou ramifiée. Les abréviations Bn, Py, Ph signifient respectivement benzyle, pyridyle, phényle
- leurs racémiques, énantiomères, diastéréoisomères et leurs mélanges, leurs tautomères et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.
- 15 2 Composé selon la revendication 1 caractérisé par le fait qu'il est choisi parmi :
- 4-(morpholin-4-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine
- 4-(pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine
- 4-(4-méthyl-pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine
- leur racémiques, énantiomères, diastéréoisomères et leurs mélanges, leurs tautomères
- 20 et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.
- 3 Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 2 caractérisé par le fait qu'il est choisi parmi :
- 4-(4-méthyl-pypérazin-1-ylméthyl)-4,5-dihydro-1,3-thiazol-2-ylamine

son racémique, ses énantiomères, tautomères ainsi que leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

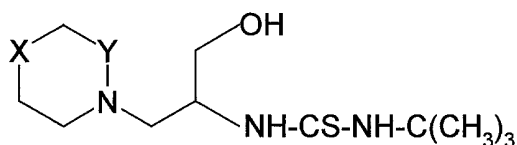
4 Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 utilisé pour préparer un médicament.

5 5 Composition pharmaceutique caractérisée par le fait qu'elle comprend dans un milieu pharmaceutiquement acceptable, un composé défini selon l'une quelconque des revendications 1 à 3.

6 Médicament selon la revendication 4 caractérisé par le fait qu'il contient au moins un composé défini selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 pour son application thérapeutique dans le traitement des maladies dans lesquelles une production anormale de monoxyde d'azote (NO) par induction de NO-synthase inductible (NOS-2) est impliquée.

7 Médicament selon la revendication 4 caractérisé par le fait qu'il contient au moins un composé défini selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 pour son application thérapeutique dans le traitement de la maladie de Parkinson.

8 Procédé de préparation des composés de formule (I) tels que définis dans la revendication 1 caractérisé en ce que l'on cyclise un dérivé de formule :



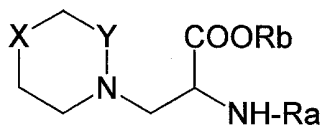
(II)

dans laquelle X et Y ont les mêmes significations que dans la revendication 1.

9 Procédé de préparation selon la revendication 8 caractérisé en ce que la cyclisation se fait en milieu acide à une température voisine de 100°C.

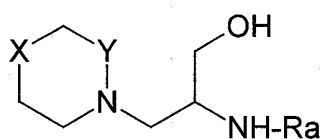
10 Procédé de préparation selon la revendication 9 caractérisé en ce que le milieu acide est préférentiellement de l'acide chlorhydrique 6N

11 Procédé de préparation des composés de formule (II) telle que définie à la revendication 8 et dans laquelle X et Y ont la même signification qu'à la revendication 1 caractérisé en ce qu'on soumet un composé de formule (IIa)



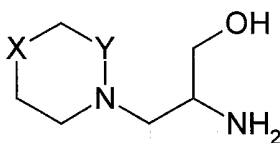
(IIa)

- 5 Ra étant un groupe protecteur de la formation amine et Rb un radical alkyl(1-4C) ou alcoxycarbonyle à l'action d'un agent de réduction afin d'obtenir le composé de formule (IIb)



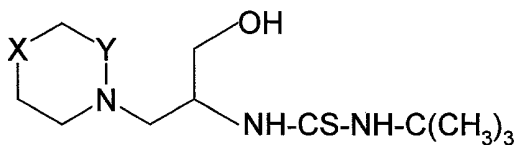
(IIb)

- 10 que l'on soumet à l'action d'un agent de déprotection afin d'obtenir un composé de formule (IIc)



(IIc)

que l'on soumet à l'action du *tert*-butylisothiocyanate afin d'obtenir un composé de formule (II)



(II)

12 A titre de produits intermédiaires, les composés de formules II, IIa, IIb, IIc telle que définies dans la revendication 11.

13 A titre de produits intermédiaires *N*-(*tert*-Butyl)-*N'*-[2-hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl]-thiourée ; *N*-[2-Hydroxy-1-(4-méthyl-pipérazin-1-ylméthyl)éthyl] acétamide ; 2-(Acétylamino)-3-(4-méthyl-pipérazin-1-yl)propanoate de méthyle

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 613629
FR 0114510

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	KIM B M ET AL: "Efficient hydrolysis of beta-aminosulfamic acids using a Lewis acid and a thiol for the synthesis of 2,3-diaminopropanoate derivatives" TETRAHEDRON LETTERS, vol. 39, no. 30, 23 juillet 1998 (1998-07-23), pages 5381-5384, XP004123239 * composés 3a et 3d *	12	
D,A	WO 94 12165 A (THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED) 9 juin 1994 (1994-06-09) * le document en entier *	1,6	
D,A	WO 96 14842 A (MERCK & CO., INC.) 23 mai 1996 (1996-05-23) * le document en entier *	1,6	
D,A	WO 95 11231 A (G.D. SEARLE & CO.) 27 avril 1995 (1995-04-27) * le document en entier *	1,6	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
		Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
		9 juillet 2002	Allard, M
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique 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</p> <p>& : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0114510 FA 613629**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date d'09-07-2002
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9822494	A	28-05-1998	AU 5356198 A	10-06-1998
			BR 9713400 A	25-01-2000
			CN 1238779 A	15-12-1999
			CZ 9901228 A3	13-10-1999
			EP 0942924 A2	22-09-1999
			HR 970627 A1	31-08-1998
			HU 0100270 A2	28-08-2001
			JP 2001503782 T	21-03-2001
			NO 992368 A	21-06-1999
			NZ 334690 A	28-09-2001
			TR 9901133 T2	21-07-1999
			TR 9902937 T2	22-01-2001
			WO 9822494 A2	28-05-1998
			ZA 9710470 A	25-06-1998
EP 307837	A	22-03-1989	AU 2222388 A	20-04-1989
			DK 514688 A	17-03-1989
			EP 0307837 A2	22-03-1989
			JP 1221357 A	04-09-1989
			NZ 226002 A	26-06-1990
WO 9412165	A	09-06-1994	AU 5533094 A	22-06-1994
			CN 1095710 A	30-11-1994
			EP 0670720 A1	13-09-1995
			WO 9412165 A2	09-06-1994
			JP 8503940 T	30-04-1996
			SI 9300616 A	30-06-1994
			ZA 9308867 A	26-05-1995
WO 9614842	A	23-05-1996	AU 4149696 A	06-06-1996
			WO 9614842 A1	23-05-1996
WO 9511231	A	27-04-1995	AT 177078 T	15-03-1999
			AU 688811 B2	19-03-1998
			AU 8081194 A	08-05-1995
			CA 2173468 A1	27-04-1995
			CN 1137268 A ,B	04-12-1996
			DE 69416848 D1	08-04-1999
			DE 69416848 T2	08-07-1999
			DK 724570 T3	27-09-1999
			EP 0724570 A1	07-08-1996
			EP 0897912 A1	24-02-1999
			ES 2129679 T3	16-06-1999
			GR 3030167 T3	31-08-1999
			JP 9504028 T	22-04-1997
			NO 961403 A	09-04-1996

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0114510 FA 613629**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 09-07-2002

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

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9511231 A	RU	2136661 C1	10-09-1999
	US	6046211 A	04-04-2000
	WO	9511231 A1	27-04-1995
	US	6071906 A	06-06-2000
	US	5854234 A	29-12-1998
