



CONFÉDÉRATION SUISSE
OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑤ Int. Cl.³: C 07 D 471/14

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ **FASCICULE DU BREVET** A5

⑪

622 794

⑳ Numéro de la demande: 8626/77

⑦ Titulaire(s):
Parcor, Paris (FR)

㉒ Date de dépôt: 12.07.1977

③ Priorité(s): 13.07.1976 FR 76 21431

⑦ Inventeur(s):
Alain Heymes, Portet/Garonne (FR)

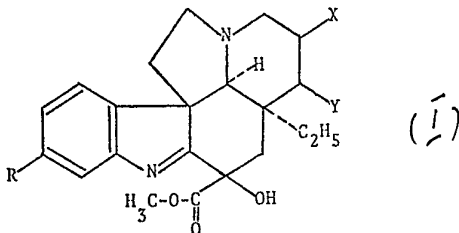
㉔ Brevet délivré le: 30.04.1981

④ Fascicule du brevet
publié le: 30.04.1981

⑦ Mandataire:
Bovard & Cie., Bern

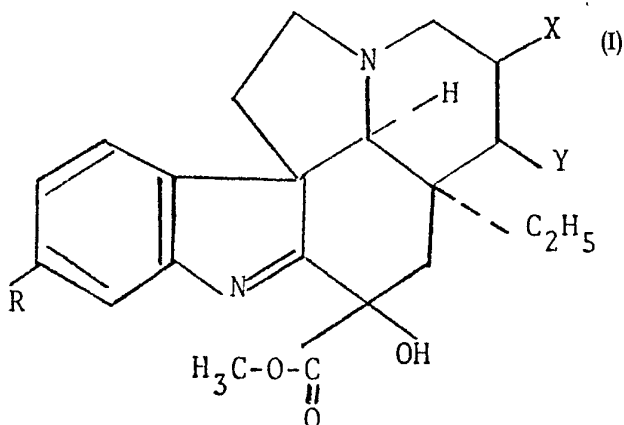
⑤ Procédé de préparation d'aspidospermidines.

⑦ Les composés de formule I, dans laquelle R, X et Y ont la définition de la revendication 1, sont préparés à partir de la vincadifformine et de ses homologues par la formation d'un carbanion, par l'oxydation de ce carbanion en l'hydroperoxyde et en réduction de ce hydroperoxyde. Les composés obtenus possèdent des actions pharmaceutiques et sont surtout utilisables comme vasodilatateurs.

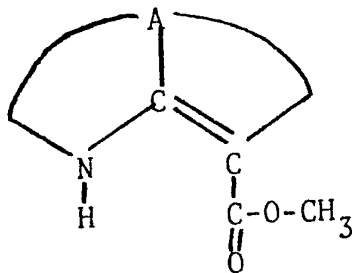


REVENDEICATIONS

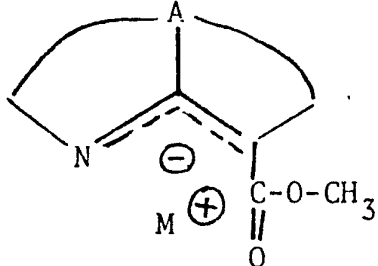
1. Procédé de préparation d'aspidospermidines de formule:



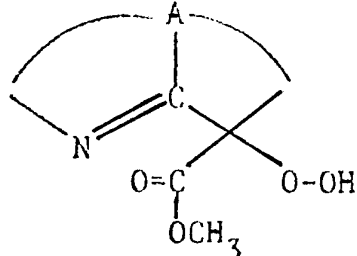
dans laquelle R est l'hydrogène ou méthoxy et X et Y sont l'hydrogène ou représentent ensemble une liaison supplémentaire de valence entre les atomes de carbone auxquels ils sont reliés, caractérisé en ce qu'il consiste à transformer les amines de formule:



en leur carbanion de formule:



M étant un ion de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux, à oxyder le carbanion par l'oxygène en l'hydroperoxyde:



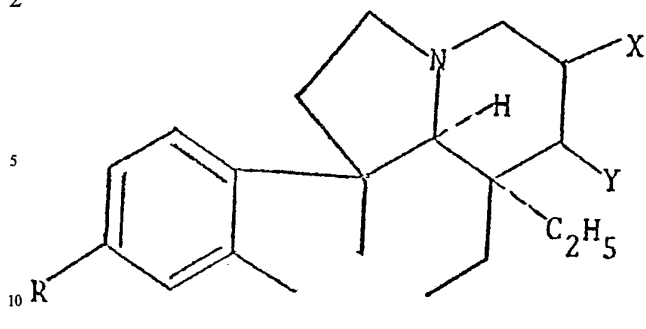
et à réduire cet hydroperoxyde. A représentant le radical tri-valent

(Formule en tête de la colonne suivante)

R, X et Y ayant les significations indiquées ci-dessus.

2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à former le carbanion en traitant les amines entre -80 et $+50^{\circ}\text{C}$ pendant 5 mn à 12 h par un hydruide de métal alcalin, un amidure de métal alcalin, un alcoylamidure de

2



métal alcalin, un alcoylsilylamidure de métal alcalin, un alcoolate de métal alcalin ou un alcoolate de métal alcalino-terreux.

3. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à effectuer l'oxydation par l'oxygène, de préférence sous une pression de 1 à 10 kg/cm² entre -30 et $+50^{\circ}\text{C}$ pendant 5 mn à 12 h.

4. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à effectuer la réduction par un réducteur du type alcoylphosphite, borohydrure ou sel en eux entre -30 et $+50^{\circ}\text{C}$.

5. Procédé suivant la revendication 1 pour la préparation de déhydro-1,2-carbométhoxy-16-hydroxy-16-aspidospermidine.

25

La présente invention se rapporte à la préparation de composés indoliques. Plus particulièrement, elle vise le procédé de préparation de nouvelles aspidospermidines.

Aux brevets français N^{os} 2133649 et 2155265, on décrit la préparation de certaines aspidospermidines par l'action respective du tétracétate de plomb pour l'acétoxy en 16, et d'un hypochlorite d'alcoyle pour le dérivé chloré en 16. On a également jeté sur le papier la formule des aspidospermidines hydroxylées ou alcoylées en 16. On a même mentionné que l'action de l'oxygène en présence d'un catalyseur comme PtO₂ sur les vincadifformine ou tabersonine de départ permet d'accéder à ces composés. Mais on ne donne aucun détail de processus opératoire pour obtenir le composé hydroxylé, non plus que ses propriétés physiques et le passage décrit par les N-oxydes en 4 démontre que cette voie de synthèse peu classique par oxydation en présence de PtO₂ ne réussit pas, comme l'ont montré des essais infructueux effectués par la présente titulaire et le troisième paragraphe de l'article de Georgette Hugel et col. paru au C.R. Acad. Sc. Paris, t. 274 (5 avril 1972) et dont l'un des collaborateurs est l'inventeur des brevets français N^{os} 2133649 et 2155265.

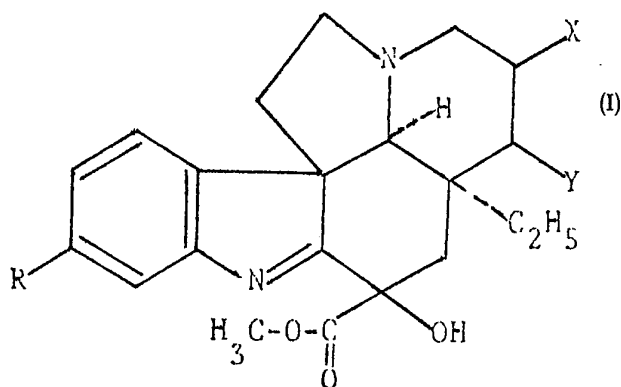
L'intérêt des composés hydroxylés comme intermédiaire de synthèse ne fait pourtant pas de doute et d'autres chercheurs ont pensé avoir formé ces composés au moins transitoirement sans les isoler dans une hémisynthèse conduisant à la vincamine. C'est ainsi qu'au brevet belge N^o 832157, p. 6, lignes 7 à 10, le breveté fait l'hypothèse que « les conditions de réaction permettent la formation du dérivé hydroxy-16, sans toutefois attaque oxydante sur l'atome d'azote en position 4, ou bien sans formation du composé N-oxyhydroxy-16 ». Les conditions de réaction sont un milieu acide (p. 6, ligne 2). Or la titulaire a préparé et isolé le composé hydroxylé en 16. Il est instable en milieu acide. Il est donc clair qu'en aucune manière ce procédé ne peut constituer un mode de préparation du composé en question.

L'invention a donc pour objet la production des aspidospermidines de formule,

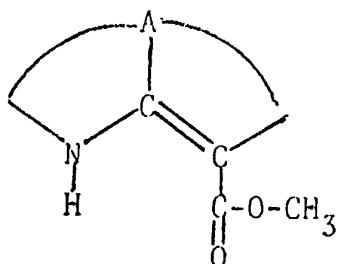
(Formule en tête de la colonne suivante)

65

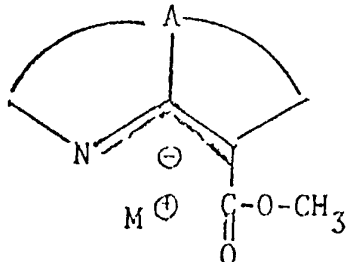
dans laquelle R est l'hydrogène ou méthoxy et X et Y sont l'hydrogène ou représentent ensemble une liaison supplémentaire de valence entre les atomes de carbone auxquels ils sont reliés.



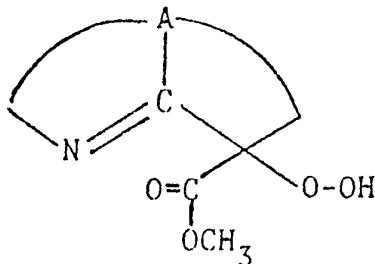
Le procédé pour préparer ces aspidospermidines consiste à transformer les amines de formule:



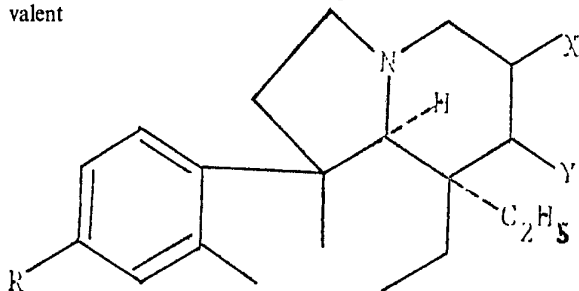
en leur carbanion de formule:



M étant un ion de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux, à oxyder le carbanion par l'oxygène en l'hydroperoxyde:



et à réduire cet hydroperoxyde, A représentant le radical trivalent



Ce n'est qu'en procédant de cette manière que l'on peut oxyder sélectivement pour préparer le composé purement hydroxylé sans formation de N-oxydes.

Le premier stade du procédé consiste à former les carbanions.

On utilise à cet effet une base, telle qu'un hydrure de métal alcalin, notamment les hydrures de sodium, de lithium ou de

potassium, un amidure ou alcoylamidure, notamment dialcoylamidure ayant jusqu'à 12 atomes de carbone, de métal alcalin, ainsi que les alcoylsilylamidures de métal alcalin, notamment les bis-(trialcoylsilyl)-amidures de lithium et de sodium.

5 On peut aussi faire appel aux alcooates de métal alcalin ou alcalino-terreux, tels que le méthylate de lithium, le méthylate de sodium, le méthylate de potassium, le méthylate de magnésium, le tertiobutylate de potassium, le tertioamylate de sodium.

En général, on utilise la base en léger excès, par exemple de

10 10% par rapport à l'équivalence stœchiométrique.

On opère généralement entre -78 et $+50^\circ\text{C}$ avec une préférence pour le bas de la gamme. La réaction dure de 5 mn à 12 h généralement.

Les solvants préférés sont le diméthylformamide, le 15 diméthylsulfoxyde des composés hétérocycliques à 4 à 8 chaînons interrompus par un atome d'oxygène comme le tétrahydrofurane, les hydrocarbures, notamment les alcanes, les alcools, les amides, les hydrocarbures aromatiques, tels que benzène, toluène, xylènes.

20 Le second stade du procédé consiste à oxyder le carbanion en l'hydroperoxyde. On opère par l'oxygène en une pression de 1 à 10 kg/cm² pendant 5 mn à 12 h. La réaction se déroule bien entre -30 et $+50^\circ\text{C}$.

L'oxygène peut être un mélange d'oxygène et d'un gaz inerte 25 comme l'azote ou un gaz rare.

Le troisième stade du procédé consiste à réduire l'hydroperoxyde en l'alcool en 16. On peut l'effectuer commodément par de nombreux agents réducteurs, tels que les réducteurs du type alcoylphosphite, notamment trialcoylphosphites, les 30 borohydrures de métaux alcalins, les sels en eux, tels que chlorures stanneux ou ferreux, etc. Cette réduction se déroule bien entre -30 et $+50^\circ\text{C}$.

On donne ci-dessous un exemple de préparation des aspidospermidines suivant l'invention.

35 Déhydro-1,2 carbométhoxy-16 hydroxy-16 aspidospermidine. R = X = Y = H.

A une suspension de 2,64 g d'hydrure de sodium (0,11 mole) dans un mélange de 200 ml de tétrahydrofurane anhydre, de 20 ml d'hexaméthylphosphotriamide (HMPT) anhydre on 40 additionne, en 30 mn, à température ambiante une solution de 33,8 g de (-) vincadifformine (0,1 mole) dans un mélange de 140 ml de diméthylformamide (DMF) anhydre et de 140 ml de toluène anhydre. Quand le dégagement d'hydrogène a cessé (environ 2 h plus tard), la solution est refroidie à -10°C 45 puis agitée sous atmosphère d'oxygène jusqu'à refus d'absorption (durée: 3 h). On ajoute alors 18,7 ml (0,14 mole) de triméthylphosphite.

Après addition de 300 ml d'eau on extrait par 300 ml de chlorure de méthylène. La phase organique séchée sur chlorure 50 de calcium et évaporée fournit 30 g de produit brut. La chromatographie de ce dernier sur une colonne de gel de silice de 750 g permet d'obtenir 9 g du produit recherché pur, cristallisé (rendement: 25%).

F: 124°C
 55 $[\alpha]_D^{25}$: -154°C (c = 1, chloroforme)
 I.R. (KBr): δ_{OH} à 3500 cm^{-1}
 δ_{C} = 0 à 1750 cm^{-1}
 R.M.N. (CDCl₃): 0,5 ppm (5H)
 60 (par rapport au TMS): 3,9 ppm (3 H).

Les spectres R.M.N. et I.R. de ce produit sont donnés aux figures 1 et 2.

Analyse C₂₁H₂₆N₂O₃:

65 Calculé: C 71,15 H 7,39 N 7,90%
 Trouvé: C 71,12 H 7,42 N 7,75%

Les aspidospermidines suivant l'invention se transforment en vincamine, épi-16 vincamine, déhydro-14,15 vincamine,

déhydro-14,15 épi-16 vincamine et leurs dérivés vinciniques correspondants (R = méthoxy) par traitement en milieu acide, comme décrit par exemple aux brevets français précités. Comme, par hydrogénation catalytique, ils peuvent tous être ramenés aux dérivés vincaminiques, ce sont des intermédiaires de synthèse de valeur.

En outre, ils jouissent en eux-mêmes de propriétés thérapeutiques précieuses, comme en témoignent les études toxicologiques et pharmacologiques rapportées ci-dessous pour le composé préparé à l'exemple précédent.

I. Etude toxicologique

Elle a porté sur:

1. la toxicité aiguë,
2. la toxicité chronique (rats et chiens),
3. la toxicité retardée,
4. la tolérance locale et générale,
5. les effets tératogènes possibles,

et a permis de constater que le composé est parfaitement toléré, aussi bien par voie orale que parentérale ou intramusculaire, sans provoquer une quelconque réaction locale ou générale.

Les résultats de l'étude de la toxicité aiguë ont été les suivants, les essais ayant été pratiqués sur la souris et sur le rat, les voies d'administration étant les voies intraveineuses, sous-cutanées et par tubage gastrique. Les doses étudiées ont été administrées sous un volume de 1 ml/100 g de poids corporel, chaque dose étant administrée à 5 mâles et 5 femelles; la DL 50 a été recherchée d'après Spaerman-Karber.

Espèce animale	Voies d'administration	DL 50/72 h/mg/kg
souris	I.V.	86,0
	S.C.	175,7
	p.o.	860,0
rat	I.V.	63,4
	S.C.	125,6
	p.o.	777,4

II. Etude pharmacologique

Elle a été pratiquée chez la souris, le lapin et le rat.

1. Etude chez la souris: léthalité engendrée par une hypoxie hypobare

1.1 Technique

La mise en altitude fictive a été réalisée en plaçant la souris dans un caisson étanche où la pression est abaissée progressivement à 190 mm de mercure (10000 m environ) grâce à une pompe de type CEM, de telle sorte que l'altitude désirée est atteinte en 1 mn 10 s en moyenne. Un chronomètre de précision est alors déclenché et on note le temps exact où cessent les mouvements thoraciques. Est considérée comme protégée toute souris dont le temps de survie est supérieur au double de la valeur moyenne notée dans la série «contrôle solvant» correspondante.

A partir du pourcentage de souris «protégées», la dose active 50 a été calculée, selon la méthode graphique préconisée par Litchfield et Wilcoxon («J. Pharm. Exp. Ther.», 1949, 96, 99-113).

1.2 Mode d'administration

Le composé a été administré par voie intrapéritonéale 20 mn avant la montée en altitude; quelle que soit la dose, le volume injecté a toujours été égal à 20 ml/kg.

On a également recherché les effets par administration par sondage œsophagien 60 mn avant le test, le volume administré étant toujours égal à 20 ml/kg.

L'ensemble de l'étude a porté sur des souris EOPS mâles, adultes (4 à 5 semaines), de souche NMRI-Han, réparties au hasard en groupes expérimentaux après une diète hydrique de 18 h.

1.3 Résultats

1.3.1 Administration par voie parentérale

	Doses mg/kg I.P.	Nombre d'animaux	Moyenne et erreur type
15	2,5	12	88,4 ± 7,01
	5,0	12	108,5 ± 20,22
20	10,0	12	155,7 ± 30,42
	15	12	179,6 ± 32,07
	20	12	275,4 ± 39,77
25	30	12	308,5 ± 35,65

1.3.2 Administration par voie orale

	Doses mg/kg P.O.	Nombre d'animaux	Moyenne et erreur type
35	50	20	122,6 ± 11,75
	100	20	186,8 ± 25,70
	150	20	179,7 ± 20,23
40	200	20	287,0 ± 25,58
	250	20	306,5 ± 29,46
45	300	20	281,6 ± 30,61

1.3.3 Doses actives 50 (D.A. 50)

	Voies d'administration	D.A. 50
50	I.P.	18,6 mg
55	P.O.	246,8 mg

1.4 Commentaire et conclusion

Il apparaît que, compte tenu des résultats expérimentaux obtenus et quelle que soit la voie d'administration choisie, le composé permet d'obtenir une protection chez la souris, contre les effets toxiques d'une altitude fictive.

2. Etude chez le lapin: effet sur l'évolution de l'électrogenèse corticale perturbée par la présence d'un œdème cérébral unilatéral chez le lapin vigile

2.1 Technique

48 h avant son utilisation, la boîte crânienne de l'animal est

mise à nu et à travers la table osseuse, on visse au contact de la dure-mère des électrodes en acier inoxydable au niveau des aires frontale et occipitale, de part et d'autre des sutures médiane et transverse. L'électrocorticogramme est enregistré sur un électroencéphalogramme Reega mini huit TR en montage transverse et en montage longitudinal, une 4^e piste servant à enregistrer l'électrocardiogramme. Par ailleurs, il a été procédé à l'ablation unilatérale d'un volet osseux de 7 à 10 mm de diamètre dans la région temporo-occipitale, opération qui, 48 h plus tard, n'entraîne pas de perturbations notables des activités électriques corticales.

L'œdème est alors créé par arrachement de la dure-mère et de l'arachnoïde et s'extériorise le plus souvent sous forme d'une hernie du cortex. Le traitement est alors pratiqué et le tracé électrocorticographique est suivi toutes les heures durant, après administration des produits testés, puis 24 et 48 h plus tard.

L'action des produits testés est jugée sur l'électrogenèse de base, en particulier sur la présence d'ondes lentes et sur l'expression de la réactivité corticale lors de deux stimuli extéroceptifs: il s'agit d'une stimulation réceptive (timbre électrique pendant 2 s) et d'une stimulation nociceptive des terminaisons nerveuses cutanées par pincement de la peau dorsale à l'aide d'une pince de Kocher.

Les administrations du composé ont été réalisées soit par voie intraveineuse, soit par voie intragastrique.

2.2 Administrations par voie intraveineuse

Le composé exerce une activité thérapeutique à l'égard de la symptomatologie œdémateuse tant sur l'aspect de l'électrogenèse spontanée que sur la durée des réactions d'éveil obtenues lors de stimulations extéroceptives. Les doses administrées ont été de 0,5 mg, 1 mg et 2 mg/kg.

2.3 Administration par voie intragastrique

A la dose de 5 mg/kg le composé accroît de façon nette la valeur de l'indice «R» et cette action bénéfique est de l'ordre de 30%. A la dose de 10 mg/kg, on obtient une amélioration franche de la valeur de l'indice «R» durant les 8 h qui suivent l'ingestion.

3.4 Résultats obtenus

Dose/kg	Avant électrochoc			Après électrochoc								
	1	2	3	20 mn			60 mn			120 mn		
50 mg	39	3,4	80	186	23,4	0	96	15,2	28	68	8,9	52
100 mg	37	3,4	77	168	22,6	0	103	13,9	17	80	8,9	47

1 = temps moyen de parcours en secondes
 2 = nombre moyen d'erreurs
 3 = pourcentage d'animaux moyens
 ↓ administration gastrique

3.5 Conclusion

Il apparaît que, dans les conditions expérimentales décrites, le composé administré par voie orale accélère la récupération de souvenirs déjà fixés et agit sur la reprise d'un métabolisme oxydatif efficace et donc d'une repolarisation neuronale convenable.

L'étude pharmacologique qui vient d'être rapportée montre bien l'intérêt du composé suivant l'invention.

En raison de cette action remarquable et des propriétés vasodilatatrices cérébrales des composés de l'invention, ceux-ci peuvent être administrés utilement en médecine humaine.

2.4 Conclusion

Le composé produit un effet bénéfique sur l'évolution de l'électrogenèse corticale perturbée par la présence d'un œdème cérébral unilatéral chez le lapin vigile.

3. Etude chez le rat: action sur un syndrome de «désorientation spatiale»

3.1 Technique

Cette étude a été réalisée sur des rats mâles, de souches Wistar AF-Han EOPS, pesant environ 160 g et âgés de 6 à 7 semaines.

Après un premier parcours, guidés par l'expérimentateur jusqu'à la sortie, les rats sont d'abord soumis à 4 apprentissages en 2 j dans un labyrinthe aquatique décrit par Giurgea et Mouravieff-Lesuisse («J. Pharmacol.», Paris, 1972, 3, 1, 17-30).

Le 3^e jour, les rats sont soumis à un électrochoc supramaximal délivré par un Neurovac, contrôlé par un oscillographe CRC OC 342; le choc électrique a les caractéristiques suivantes: 100 c/s, 0,5 ms, 1 s, 60 V.

Après un parcours du labyrinthe 20 mn après l'électrochoc, les rats reçoivent leur traitement par sonde œsophagienne. Deux essais sont réalisés 40 et 100 mn après traitement, soit 60 à 120 mn après choc électrique et on chronomètre, pour chaque animal, le temps de parcours; d'autre part, le nombre d'erreurs est noté.

3.2 Administration du composé

Les rats sont soumis à une diète hydrique de 18 h après le 4^e passage. Le composé a été administré par voie intragastrique sous un volume de 5 ml/kg.

3.3 Expression des résultats

Ont été notés:

- le temps nécessaire pour sortir du labyrinthe aquatique,
- le nombre moyen d'erreurs commises pour sortir du labyrinthe,
- le pourcentage de sujets «normaux» c'est-à-dire de rats parcourant le labyrinthe en faisant entre 0 et 4 erreurs seulement.

Ils peuvent être avantageusement formulés pour l'administration par voie orale sous forme de comprimés, comprimés dragéifiés, gélules et gouttes. Ils peuvent aussi être présentés sous forme de suppositoires et de soluté injectable ou buvable. Chaque dose unitaire de 0,1 à 1 g peut contenir de 0,01 à 0,5 g de principe actif.

Par leurs propriétés, les composés de l'invention sont indiqués dans l'insuffisance circulatoire cérébrale, les séquelles d'accidents aigus d'insuffisance circulatoire cérébrale, les affections d'origine vasculaire en ORL et en ophtalmologie, les séquelles de traumatismes crâniens, dans les suites d'interventions neuro-chirurgicales. La posologie est fonction du poids du malade et de l'importance des symptômes, en moyenne, 2 prises par jour, matin et soir, au cours de repas, c'est-à-dire, petit déjeuner et dîner.

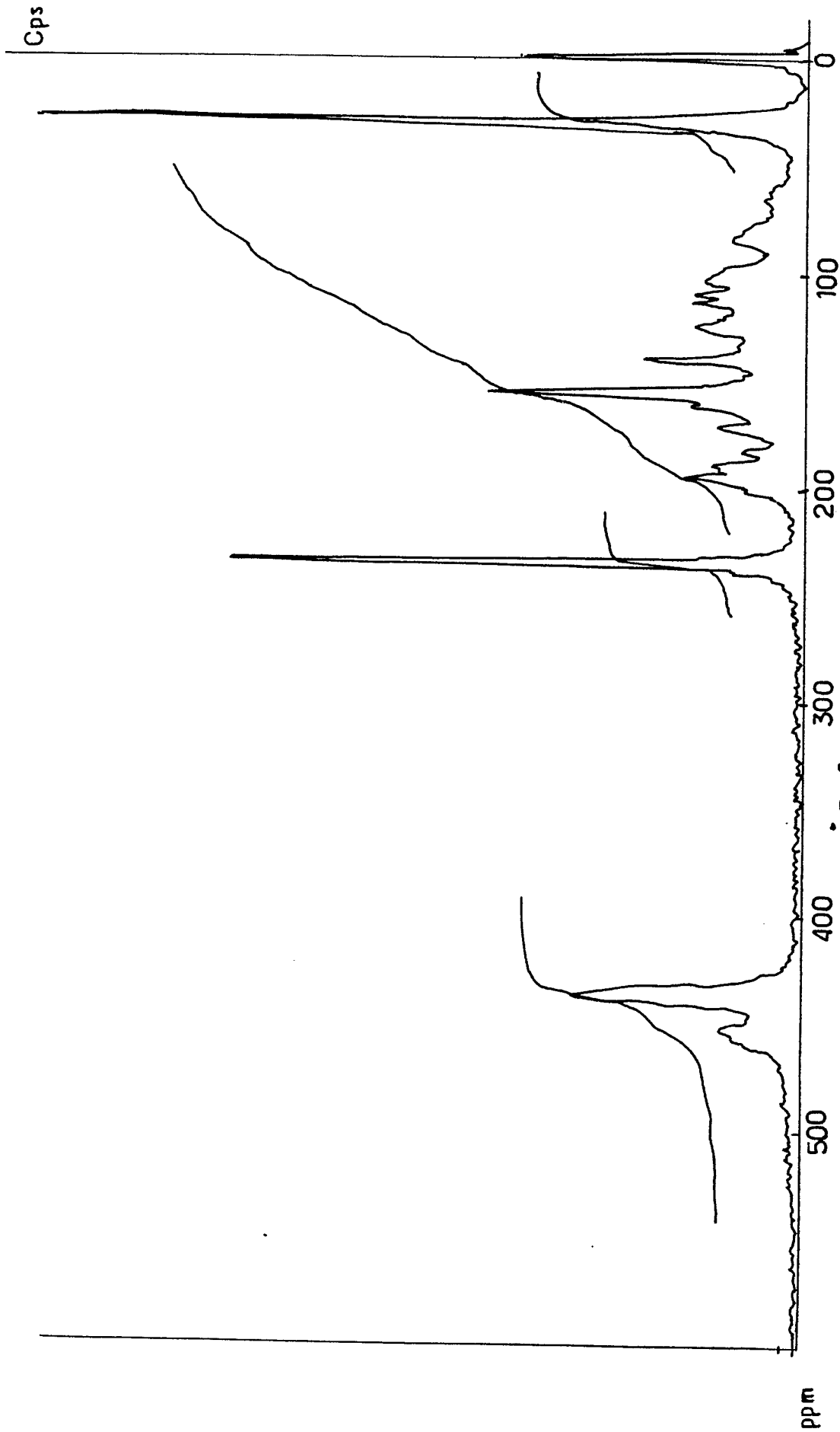


FIG.1

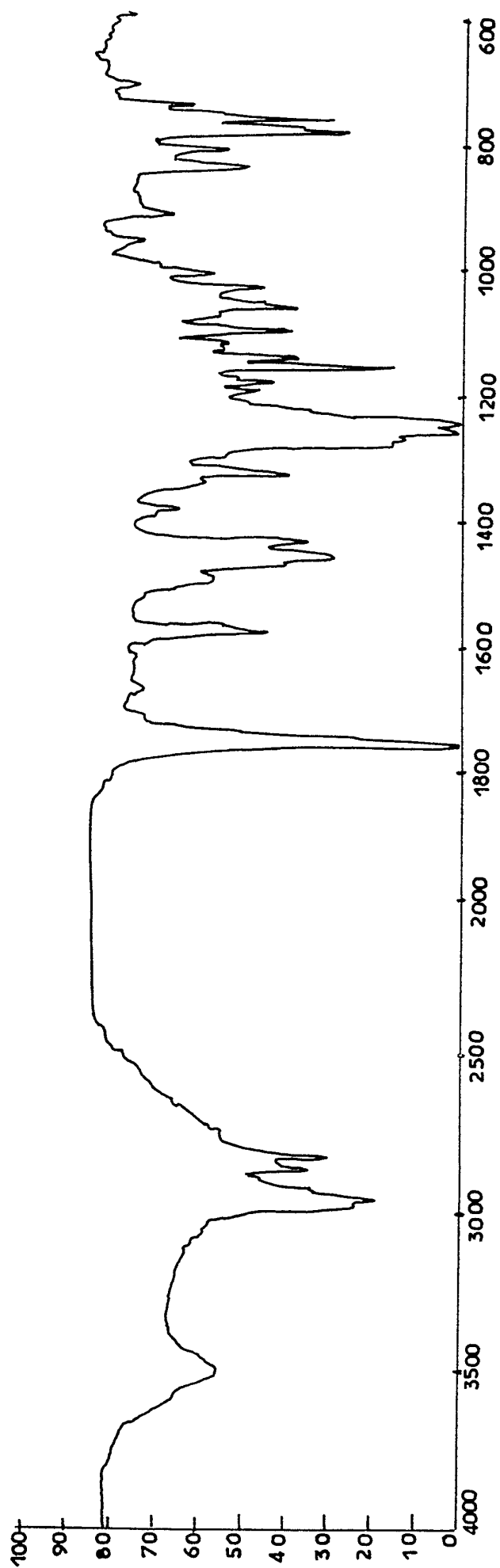


FIG.2