



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

⑪ Numéro de publication:

0 162 036
B1

⑫

FASCICULE DE BREVET EUROPEEN

④⑤ Date de publication du fascicule du brevet:
16.08.89

⑤① Int. Cl.: **C 07 D 207/27, A 61 K 31/40**

②① Numéro de dépôt: **85870069.3**

②② Date de dépôt: **14.05.85**

⑤④ (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

③① Priorité: **15.05.84 GB 8412357**

④③ Date de publication de la demande:
21.11.85 Bulletin 85/47

④⑤ Mention de la délivrance du brevet:
16.08.89 Bulletin 89/33

⑧④ Etats contractants désignés:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

⑤⑥ Documents cités:
FR-A-2 081 508
FR-A-2 368 275

⑦③ Titulaire: **U C B, S.A., 326, Avenue Louise,**
B-1050 Bruxelles (BE)

⑦② Inventeur: **Gobert, Jean, 120, rue du Comet,**
B-1040 Bruxelles (BE)
Inventeur: **Geerts, Jean-Pierre, 12, Habaru,**
B-6737 Leglise (BE)
Inventeur: **Bodson, Guy, 248, rue de la Chevratte,**
B-6739 Bellefontaine (Tintigny) (BE)

⑦④ Mandataire: **Dusseldorp, Raymond et al, U.C.B. S.A.**
Département D.T.B. 326, avenue Louise, Bte 7,
B-1050 Bruxelles (BE)

Il est rappelé que: Dans un délai de neuf mois à compter de la date de publication de la mention de la délivrance du brevet européen toute personne peut faire opposition au brevet européen délivré, auprès de l'Office européen des brevets. L'opposition doit être formée par écrit et motivée. Elle n'est réputée formée qu'après paiement de la taxe d'opposition (Art. 99(1) Convention sur le brevet européen).

ACTORUM AG

EP 0 162 036 B1

Description

La présente invention se rapporte à un composé nouveau, le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide ainsi qu'à des procédés pour le préparer. Elle concerne également les compositions thérapeutiques renfermant ledit composé.

Dans le brevet britannique no 1 309 692 au nom de la demanderesse, on décrit l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide (point de fusion 122°C) et on indique que les substances de ce type sont utilisables dans le domaine thérapeutique, par exemple pour le traitement du mal de mouvement, des hyperkinésies, des hypertonies et de l'épilepsie.

D'autre part, on y mentionne aussi que ces composés peuvent trouver une application dans le domaine des troubles de la mémoire dans des conditions normales ou pathologiques.

En outre, il est connu également que l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide possède une activité de protection envers les agressions du système nerveux central causées par des hypoxies, de l'ischémie cérébrale, etc. (Pharmazie, 37/11, (1982), 753-765).

Poursuivant ses travaux de recherche dans ce domaine, la demanderesse a préparé et isolé l'énantiomère lévogyre de l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide et elle a trouvé que ce composé se distingue de manière tout à fait imprévue de la forme racémique connue

- 1) par une activité de protection envers l'hypoxie (anti-hypoxie) 10 fois plus élevée et
- 2) par une activité de protection envers l'ischémie cérébrale (anti-ischémie) 4 fois supérieure.

De cet ensemble imprévisible de propriétés, il résulte que l'énantiomère lévogyre de l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide convient mieux pour le traitement et la prévention des agressions du type hypoxique et ischémique de système nerveux central. La contribution importante du phénomène hypoxique dans certaines pathologies du système nerveux central laisse présager un effet thérapeutique de ce produit dans le traitement des suites d'accidents vasculaires cérébraux et de traumatismes crâniens, des séquelles du processus de vieillissement ou des insuffisances circulatoires du système nerveux central résultant d'accidents cérébroischémiques ou d'hypoxie survenant p.ex. lors de la naissance. Par extension, il est permis d'envisager l'utilisation de ce produit dans les affections du type hypoxique d'autres organes ou tissus: cœur et reins.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet l'énantiomère lévogyre de l'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide qui possède la configuration absolue S, ledit composé étant substantiellement exempt de l'énantiomère dextrogyre ayant la configuration absolue R.

Le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide conforme à la présente invention ne peut pas être obtenu directement à partir de la forme

racémique par séparation des deux énantiomères. Il peut être préparé par l'un ou l'autre des procédés suivants:

- a) on fait réagir l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec (1) un halogénoformiate d'alkyle de formule HalCOOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et (2) de l'ammoniac. L'halogénoformiate d'alkyle est de préférence du chloroformiate d'éthyle.

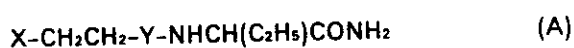
Cette réaction est généralement effectuée dans le dichlorométhane, à une température comprise entre -10 et -60°C.

- L'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, utilisé dans cette réaction, peut être obtenu à partir de l'acide ($\pm$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique, par résolution chimique selon des méthodes connues en soi, par exemple en formant un sel de cet acide avec une base optiquement active et en isolant le sel formé avec l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique, par cristallisations successives dans un solvant approprié (p.ex. le benzène).

A titre d'exemples de bases optiquement actives pouvant être utilisées pour cette résolution, on peut citer des alcaloïdes comme la brucine, la quinine, la strychnine, la quinidine, la cinchonidine et des amines comme l'alpha-méthyl-benzylamine et la déhydroabiétylamine (cfr. S. H. Wilen et al., Tetrahedron, 33, (1977), 2725-2736). Des résultats particulièrement favorables sont obtenus en utilisant l'alpha-méthyl-benzylamine et la déhydroabiétylamine.

- Quant à l'acide ($\pm$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique utilisé comme matière première, il peut être obtenu par saponification des esters alkyles correspondants, dont la synthèse a été décrite dans le brevet britannique no 1 309 692.

- b) on cyclise un (S)-2-amino-butanamide de formule



dans laquelle

X représente un radical $\text{ZOOC}-$ ou HalCH_2- , Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, de préférence le chlore ou le brome, et

Y représente un radical $-\text{CH}_2-$ ou $-\text{CO}-$, avec la restriction que lorsque X représente un radical $\text{ZOOC}-$, Y est un radical $-\text{CH}_2-$ et lorsque X représente un radical HalCH_2- , Y est un radical $-\text{CO}-$.

La cyclisation du (S)-2-amino-butanamide de formule A est effectuée dans un solvant inerte, tel que le toluène ou le dichlorométhane, à une température comprise entre 0°C et la température d'ébullition du solvant. Cette cyclisation s'opère en présence d'une substance basique, en tant que catalyseur. Ce catalyseur est la 2-hydroxypyridine, lorsque le composé de formule A est un ester ($\text{X} = \text{ZOOC}-$) et le bromure de tétrabutyl-

ammonium lorsque le composé de formule A est un halogénure ($X = \text{HalCH}_2-$).

Lorsque X représente un radical $\text{ZOOC}-$ et Y est un radical $-\text{CH}_2-$, le composé de formule A est un (S)-4-[[l-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate d'alkyle de formule $\text{ZOOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$, dans laquelle Z a la signification donnée plus haut. Ce dernier peut être préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogénobutyrate d'alkyle de formule $\text{ZOOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Hal}$ dans laquelle Z a la signification donnée plus haut et Hal est un atome d'halogène. Lorsque X représente un radical HalCH_2- et que Y est alors un radical $-\text{CO}-$, le composé de formule A est un (S)-N-[l-(aminocarbonyl)propyl]-4-halogénobutanamide de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$, dans laquelle Hal a la signification donnée plus haut. Ce dernier peut être préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un halogénure de 4-halogénobutyryle de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$ dans laquelle Hal est un atome d'halogène.

La réaction entre le (S)-2-amino-butanamide d'une part et le 4-halogénobutyrate d'alkyle ou l'halogénure de 4-halogénobutyryle d'autre part, est généralement effectuée dans un solvant inerte, tel que le benzène, le toluène, le dichlorométhane ou l'acétonitrile, à une température comprise entre -5 et $+100^\circ\text{C}$ et en présence d'un accepteur d'acide tel qu'une base organique tertiaire (p.ex. la triéthylamine) ou une base minérale (p.ex. le carbonate ou l'hydroxyde de potassium ou de sodium).

Lorsque X représente un radical HalCH_2- et Y un radical $-\text{CO}-$, il n'est pas indispensable d'isoler le composé de formule A obtenu à partir des matières premières citées plus haut. En effet, le composé de formule A, obtenu in situ, peut être cyclisé directement en le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide conforme à la présente invention (voir l'exemple 4 ci-après).

Le (S)-2-amino-butanamide utilisé comme matière première, peut être obtenu à partir de l'acide (S)-2-amino-butyrique par ammonolyse de l'ester méthylique correspondant selon la méthode décrite par K. Folkers et al. dans J. Med. Chem. 14, (6), (1971), 484-487.

Les exemples qui suivent illustrent l'invention sans la limiter. Des ces exemples, la pureté optique des produits obtenus a été vérifiée par la détermination calorimétrique des enthalpies différentielles (C. Fouquey et J. Jacques, Tetrahedron, 23, 1967, 4009-19).

Exemple 1

a) Préparation du sel de (R)-alpha-méthyl-benzylamine de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

Dans un réacteur de 50 litres, on met en suspension 8,7 kg (50,8 moles) d'acide ($\pm$)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique dans 21,5 litres de benzène anhydre. A cette suspension, on ajoute progressivement une solution

contenant 3,08 kg (25,45 moles) de (R)-(+)-alpha-méthyl-benzylamine et 2,575 kg (25,49 moles) de triéthylamine dans 2,4 litres de benzène anhydre. On porte ensuite le mélange à reflux jusqu'à dissolution complète. On refroidit et on laisse cristalliser pendant quelques heures. On obtient ainsi 5,73 kg de sel de (R)-alpha-méthyl-benzylamine de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

P.F.: $148-151^\circ\text{C}$. Rendement: 77,1%.

Ce sel peut être purifié par chauffage à reflux pendant 4 heures dans 48,3 litres de benzène. On refroidit et on filtre. On recueille ainsi 5,040 kg du sel souhaité.

P.F.: $152-153,5^\circ\text{C}$. Rendement: 67,85%.

b) Préparation de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

On dissout 5,04 kg de sel obtenu en a) ci-dessus dans 9 litres d'eau. On y ajoute lentement 710 g d'une solution d'hydroxyde de sodium à 30%. Le pH atteint 12,6 et la température ne dépasse pas 25°C . On agite la solution encore pendant 20 minutes et on extrait l'alpha-méthyl-benzylamine libérée en plusieurs fois par un volume total de 18 litres de benzène.

On acidifie ensuite la phase aqueuse jusqu'à une valeur de pH de 1,1 par addition de 3,2 litres d'acide chlorhydrique 6N. Le précipité formé est filtré, lavé à l'eau et séché.

On extrait le filtrat en plusieurs fois par un volume total de 50 litres de dichlorométhane. On sèche la phase organique sur sulfate de sodium, on la filtre et on l'évapore à sec sous pression réduite.

Le résidu obtenu après évaporation et le précipité isolé précédemment sont dissous ensemble à chaud dans 14 litres de dichlorométhane. Le dichlorométhane est distillé et remplacé au fur et à mesure par 14 litres de toluène dans lequel le produit cristallise. On refroidit à la température ambiante et on filtre les cristaux. On obtient ainsi 2,780 kg d'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique.

P.F.: $125,9^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{20} = -26,4^\circ\text{C}$ ($c = 1$, acétone). Rendement: 94,5%.

c) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

On met en suspension 34,2 g (0,2 mole) de l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique dans 225 ml de dichlorométhane, refroidi à -30°C . On y ajoute goutte à goutte 24,3 g (0,24 mole) de triéthylamine en 15 minutes. Le mélange réactionnel est alors refroidi à -40°C et on y ajoute 24,3 g (0,224 mole) de chloroformiate d'éthyle en 12 minutes. Ensuite on fait passer un courant d'ammoniac pendant 4 heures et demie. On laisse revenir à la température ambiante et on élimine les sels d'ammonium formés par filtration et lavage avec du dichlorométhane. On distille le solvant sous pression réduite. Le résidu solide ainsi obtenu est mis en dispersion dans 55 ml de toluène et agité pendant 30 minutes, puis filtré et recristallisé dans 280 ml d'acétate d'éthyle en

présence de 9 g tamis moléculaire 0,4 nm en poudre.

On obtient 24,6 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

P.F.: 115-118°C [α]_D²⁵ = -89,7°C (c = 1, acétone). Rendement: 72,3%.

Analyse pour C₈H₁₄N₂O₂ en %

calculé: C 56,45 H 8,29 N 16,46

trouvé: C 56,71 H 8,22 N 16,48

L'acide (±)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acétique racémique utilisé dans cette synthèse a été préparé de la manière décrite ci-dessous. Dans un ballon de 20 litres contenant 3,65 kg (18,34 moles) de (±)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétate d'éthyle, on ajoute en deux heures, à une température ne dépassant pas 60°C, une solution contenant 788 g (19,7 moles) d'hydroxyde de sodium dans 4,35 litres d'eau. Lorsque cette addition est terminée, on porte la température du mélange à 80°C et on distille l'alcool formé jusqu'à ce que la température dans le milieu atteigne 100°C. On refroidit à 0°C et on ajoute en 2 heures et demie, 1,66 litre (19,60 moles) d'acide chlorhydrique 12N. On filtre le précipité, on le lave avec deux litres de toluène et on le recrystallise dans de l'alcool isopropylique. On obtient ainsi 2,447 kg d'acide (±)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique racémique, fondant à 155-156°C. Rendement: 78%.

Analyse pour C₈H₁₃NO₃ en %

calculé: C 56,12 H 7,65 N 8,18

trouvé: C 55,82 H 8,10 N 7,97

Exemple 2

a) Préparation du (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate d'éthyle.

A une suspension de 47,75 g (0,345 mole) de chlorhydrate de (S)-2-amino-butanamide ([α]_D²⁵: +26,1°C; c = 1, méthanol) dans 400 ml de toluène, on ajoute 143,6 ml (1,035 mole) de triéthylamine. On porte le mélange à 80°C et on y introduit goutte à goutte 67,2 g (0,345 mole) de 4-bromobutyrate d'éthyle.

On maintient le milieu réactionnel à 80°C pendant 10 heures, puis on filtre à chaud pour éliminer les sels de triéthylamine. On évapore le filtrat sous pression réduite et on obtient 59 g d'un résidu huileux constitué essentiellement de produit de monoalkylation et contenant un peu de dérivé dialkylé.

Le produit, obtenu à l'état brut, a été utilisé tel quel, sans autre purification, dans la préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide par cyclisation.

b) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

On met 54 g du produit brut obtenu en a) ci-dessus, en solution dans 125 ml de toluène, en présence de 2 g de 2-hydroxypyridine. On maintient le mélange à 100°C pendant 12 heures.

On filtre à chaud l'insoluble, puis on évapore le filtrat sous pression réduite.

On purifie le résidu par chromatographie sur une colonne de 1,1 kg de silice (diamètre de la colonne: 5 cm; éluant: un mélange d'acétate d'éthyle, de méthanol et d'ammoniaque concentré dans des proportions en volume de 85:12:3).

Le produit isolé est recrystallisé dans 50 ml d'acétate d'éthyle. On recueille ainsi 17,5 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide. P.F.: 117°C [α]_D²⁵: -90,0°C (c = 1, acétone). Rendement: 41%.

Exemple 3

a) Préparation du (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-butanamide.

On mélange 345,6 g (2,5 moles) de carbonate de potassium broyé et 138,5 g (1 mole) de chlorhydrate de (S)-2-amino-butanamide dans 2,5 litres d'acétonitrile. On refroidit le mélange réactionnel vers 0°C et on y introduit goutte à goutte, une solution de 129,2 g (1,2 mole) de chlorure de 4-chlorobutyryle dans 500 ml d'acétonitrile. Après l'addition, on laisse le mélange réactionnel revenir à la température ambiante; on élimine l'insoluble par filtration et on évapore le filtrat sous pression réduite. Le résidu brut obtenu est agité pendant 30 minutes dans 1,2 litre d'éther anhydre à une température comprise entre 5 et 10°C. On filtre le précipité, on le lave par 2 fois 225 ml d'éther et on le sèche sous vide. On obtient ainsi 162,7 g de (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-butanamide.

P.F.: 118-123°C [α]_D²⁵: -18°C (c = 1, méthanol). Rendement: 78,7%.

Le produit brut ainsi obtenu convient bien pour le stade suivant de cyclisation. Il peut cependant être purifié par agitation pendant une heure dans de l'acétate d'éthyle anhydre.

P.F.: 120-122°C [α]_D²⁵: -22,2°C (c = 1, méthanol).

b) Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

A 0°C et sous atmosphère d'azote, on mélange dans 45 ml de dichlorométhane, 6,2 g (0,03 mole) de (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-butanamide et 0,484 g (0,0015 mole) de bromure de tétrabutylammonium. Sans dépasser +2°C dans le mélange réactionnel, on ajoute en 30 minutes 2,02 g (0,036 mole) d'hydroxyde de potassium pulvérulent. Le mélange est ensuite agité pendant une heure, puis on y ajoute encore 0,1 g (0,0018 mole) d'hydroxyde de potassium broyé et on agite encore pendant 30 minutes à 0°C. On laisse revenir à température ambiante. On élimine l'insoluble par filtration et on concentre le filtrat sous pression réduite. Le résidu obtenu est recrystallisé dans 40 ml d'acétate d'éthyle en présence de 1,9 g de tamis moléculaire 0,4 nm, qui est éliminé par filtration à chaud. On obtient ainsi 3,10 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

P.F.: 116,7°C [α]_D²⁵: -90,1°C (c = 1, acétone). Rendement: 60,7%.

Exemple 4

Préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

Cet exemple illustre une variante du procédé de l'exemple 3, dans laquelle le 4-chloro-butanamide intermédiaire obtenu in situ, n'est pas isolé.

A une suspension de 69,25 g (0,5 mole) de chlorhydrate de (S)-2-amino-butanamide dans 600 ml de dichlorométhane, on ajoute à la température ambiante 84 g de sulfate de sodium anhydre. On refroidit à 0°C et on ajoute 115 g d'hydroxyde de potassium broyé, puis 8,1 g (0,025 mole) de bromure de tétrabutylammonium dissous dans 100 ml de dichlorométhane. Sous bonne agitation, on ajoute goutte à goutte, à 0°C, une solution de 77,5 g de chlorure de 4-chlorobutyle dans 100 ml de dichlorométhane. Après 5 heures de réaction, on ajoute encore 29 g d'hydroxyde de potassium broyé. Deux heures plus tard, on filtre le mélange réactionnel sur Hyflo-cel (Hyflo-cel est une marque commerciale) et on évapore le filtrat sous pression réduite. On met le résidu (93,5 g) en dispersion dans 130 ml de toluène chaud pendant 45 minutes. On filtre et on évapore sous pression réduite. On dissout le résidu (71,3 g) à chaud dans 380 ml d'acétate d'éthyle, auquel on ajoute 23 g de tamis moléculaire 0,4 nm en poudre. On porte ce mélange à reflux et on filtre à chaud. Après refroidissement du filtrat, le produit souhaité cristallise. On recueille ainsi 63 g de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide. P.F.: 117°C [α]_D²⁵: -91,3°C (c = 1, acétone). Rendement: 74,1%

Essais pharmacologiques.

L'alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide racémique (produit A) et le (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide (produit B) de la présente invention ont été soumis à des tests pharmacologiques.

I. Protection envers l'hypoxie (souris).

a. Principe (C. Giurgea et F. Mouravieff-Lesuisse; Proc. Xth Intern. Congr. of the Coll. Intern. Neuro.-psych. - Pergamon Press, Oxford and New York, 1978, p. 1623-1631).

Le principe de ce test consiste à mesurer les possibilités de survie de l'organisme soumis à une atmosphère progressivement appauvrie en oxygène. Etant donné la sensibilité particulière du système nerveux à ce type d'agression, les résultats obtenus dans ce test peuvent s'interpréter comme une mesure de résistance du système nerveux. Les produits augmentant la résistance des animaux conviennent par conséquent pour le

traitement et la prévention des agressions du type hypoxique du système nerveux central.

b. Méthode

L'appareil consiste en une enceinte étanche et transparente mesurant 37 cm de haut, 39 cm de profondeur et 97 cm de largeur. Cette cage de 140 litres est munie de 60 compartiments transparents de 6 x 10 x 10 cm permettant d'accueillir séparément 60 souris.

Un ventilateur y assure le brassage de l'atmosphère qui circule parmi les compartiments au travers d'un plancher grillagé. L'enceinte est munie d'un dispositif d'admission d'azote à débit constant et d'une ouverture communiquant avec l'air ambiant.

Les animaux sont des souris (souche NMRI) mâles de 20 à 22 g. Celles-ci sont mises à jeun la veille du test. L'expérience se pratique le lendemain et simultanément sur trois groupes de 20 souris: un groupe témoin reçoit de l'eau (25 ml/kg) par voie orale et les deux autres groupes reçoivent chacun per os un produit à tester.

Vingt-cinq minutes après l'administration, les animaux sont répartis au hasard parmi les compartiments de manière à ce qu'aucun des trois groupes d'animaux ne soit localisé en un endroit préférentiel de la cage.

Trente minutes après l'administration, la cage est fermée et l'azote y est admis à un débit constant (7,750 litres d'azote technique par minute) pendant environ 37 minutes; l'atmosphère contient alors 3,7% d'oxygène.

La cage reste fermée jusqu'au moment critique où l'on n'observe plus que trois survivants parmi les vingt animaux témoins. A ce moment, la cage est ouverte l'air ambiant y est admis. Quelques instants plus tard, les survivants sont dénombrés parmi chaque groupe d'animaux.

Pour chaque dose de produit à tester, les expériences sont répétées une ou deux fois, et les résultats sont globalisés pour obtenir un minimum de 40 (ou 60) animaux traités par dose et 40 (ou 60) animaux témoins correspondants.

Pour chaque dose de produit testé, le nombre d'animaux survivants parmi ceux traités par le produit est comparé au nombre d'animaux survivants parmi les animaux témoins. La différence entre ces nombres exprime l'activité de protection du produit envers l'hypoxie causée par la privation d'oxygène. La signification statistique (P) de cette différence est évaluée par le test de Fischer-Yates.

c. Résultats

Dans le tableau I ci-dessous, on donne les résultats obtenus pour des doses croissantes des produits A et B.

Tableau I

Produit testé	Dose per os en mmol/kg	Nombre d'animaux survivants		P
		témoins	traités	
A	0,032	12/60	16/60	NS
	0,1	8/60	7/60	NS
	0,16	12/60	12/60	NS
	0,32	10/60	30/60	<0,001
B	0,016	5/40	11/40	NS
	0,032	8/40	17/40	<0,6
	0,1	6/40	19/40	<0,005
	0,16	6/40	19/40	<0,005
	0,32	5/40	17/40	<0,01

NS = différence non significative.

d. Conclusions

Dans ce test, l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) augmente la survie des animaux privés d'oxygènes à partir d'une dose de 0,032 mmol/kg. Le racémate (produit A) exerce une activité similaire seulement à partir de 0,32 mmol/kg (lire dose efficace: et est donc 10 fois moins actif que l'énantiomère lévogyre.

II. Protection envers l'ischémie cérébrale (rats).

a. Principe (C. Giurgea et F. Mouravieff-Lesuisse; loc. cit. sous I. a.).

Des contrôles électroencéphalographiques ont montré que la ligature des deux carotides communes chez le rat, provoque une véritable ischémie cérébrale: le tracé de l'électroencephalogramme s'applatit et devient même isoélectrique (silence électrique).

b. Méthode

Des rats Wistar mâles d'un poids compris entre 250 et 350 g sont anesthésiés au pentobarbital, administré par voie intrapéritonéale à la dose de 50 mg/kg (0,5 ml/100 g).

Immédiatement après l'anesthésie, on administre aux animaux, par voie intrapéritonéale, à raison de 0,5 ml/100 g, soit le produit à tester dissous dans une solution de chlorure de sodium isotonique (animaux traités), soit uniquement une solution de chlorure de sodium isotonique ou placebo (animaux témoins).

Environ 20 minutes plus tard, les deux caro-

20

tides communes sont dénudées et environ dix minutes après, elles sont ligaturées simultanément. Cette opération se fait simultanément sur les animaux témoins et sur les animaux traités.

25

Une heure après l'administration du produit à tester ou du placebo, on administre à nouveau par voie intrapéritonéale, une même dose, soit du produit à tester (aux animaux traités), soit du placebo (aux animaux témoins).

30

Cinq heures après la première administration, on injecte une troisième fois une dose, soit du produit à tester (aux animaux traités survivants), soit du placebo (aux animaux témoins survivants). Vingt-quatre heures après la première administration, on vérifie, chez tous les animaux,

35

sous anesthésie au pentobarbital, l'efficacité de la ligature par section des carotides en aval de celle-ci. On note le nombre d'animaux survivants tant parmi les animaux traités que parmi les animaux témoins. Pour chaque dose de produit testé, le nombre d'animaux survivants parmi ceux

40

traités par le produit est comparé au nombre d'animaux survivants parmi les animaux témoins. La différence exprime l'activité de protection du produit envers la létalité induite par la ligature simultanée des deux carotides. La signification statistique (P) de cette différence est évaluée par le test de Brandt-Snedecor.

45

50

c. Résultats

Dans le tableau II ci-dessous, on donne les résultats obtenus pour des doses croissantes des produits A et B:

Tableau II

Produit testé	Dose ip en mmol/kg	Nombre d'animaux survivants		P
		témoins	traités	
A	0,32	6/29	8/29	NS
	0,64	11/30	21/30	0,01
B	0,1	9/29	14/29	NS
	0,16	6/29	14/30	0,05
	0,32	8/30	19/29	0,01

NS = différence non significative.

d. Conclusions

Le tableau II montre que le racémate (produit A) est actif qu'à partir d'une dose de 0,64 mmol/kg. Par contre, l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) protège les animaux contre la létalité induite par la ligature simultanée des deux carotides dès 0,16 mmol/kg et s'avère donc 4 fois plus actif que le racémate.

III. Toxicité

Dans le tableau III ci-dessous, on donne, pour les produits A et B, les DL 50 par voie intraveineuse et en mg/kg, déterminées chez la souris mâle et le rat mâle:

Tableau III

Produit testé	DL 50 en mg/kg	
	souris	rat
A	1790	1500
B	1081	1038

Il ressort de ce tableau que l'énantiomère lévogyre de l'invention (produit B) est, comme le racémate (produit A) très peu toxique et que la dose toxique se situe bien au-dessus de la dose active. Le composé de la présente invention est administrable soit par voie orale sous forme de compositions solides ou liquides, par exemple sous forme de comprimés, gélules, dragées, capsules en gélatine, solutions ou sirops, soit par voie parentérale sous forme de solutions ou suspensions injectables.

Les formes pharmaceutiques telles que solutions ou comprimés sont préparées selon les méthodes couramment utilisées par les pharmaciens. On mélange le composé de l'invention avec un véhicule solide ou liquide, non toxique, pharmaceutiquement acceptable et éventuellement avec un agent dispersant, un agent stabilisant et le cas échéant, avec des agents colorants, édulcorants, etc. Les excipients pharmaceutiques solides pour la préparation de comprimés ou de capsules sont, par exemple, l'amidon, le talc, le carbonate de calcium, le lactose, le sucre, le stéarate de magnésium, etc.

Le pourcentage de produit actif dans les compositions pharmaceutiques peut varier dans des limites très larges selon le mode d'administration et l'état du patient, la posologie humaine pouvant varier dans ces conditions entre 250 mg à 3 g par jour. A titre d'exemple non limitatif d'une composition contenant le composé de l'invention, on donne ci-après un exemple d'une gélule à 100 mg utilisable per os:

produit B	100 mg
avicel*	217 mg
stéarate de Mg	6 mg

*Avicel est une marque commerciale pour une cellulose microcristalline.

Revendications pour les Etats contractants: BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE

1. (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide.

2. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce qu'on fait réagir, à une température comprise entre -10°C et -60°C, l'acide (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec (1) un halogénoformiate d'alkyle de formule Hal-COOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, et (2) de l'ammoniac.

3. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce qu'on cyclise, dans un solvant inerte et en présence d'un catalyseur basique choisi parmi la 2-hydroxypyridine ou le bromure de tétrabutylammonium en présence d'hydroxyde de potassium, un (S)-2-amino-butanamide de formule



dans laquelle X représente un radical ZOOC- ou HalCH₂-, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, et Y représente un radical -CH₂- ou -CO-, avec la restriction que lorsque X représente un radical ZOOC-, Y est un radical -CH₂- et que lorsque X représente un radical HalCH₂-, Y est un radical -CO-.

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate d'alkyle de formule ZOOCCH₂CH₂CH₂NHCH(C₂H₅)CONH₂ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogénobutyrate d'alkyle de formule ZOOCCH₂CH₂CH₂Hal, Z ayant la signification donnée à la revendication 3 et Hal étant un atome d'halogène.

5. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halogénobutanamide de formule HalCH₂CH₂CH₂CONHCH(C₂H₅)CONH₂ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un halogénure de 4-halogénobutyle de formule HalCH₂CH₂CH₂COHal, Hal étant un atome d'halogène.

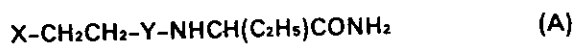
6. Compositions thérapeutiques renfermant une quantité thérapeutiquement efficace de (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide en association avec des excipients pharmaceutiques solides ou liquides.

Revendications pour l'Etat contractant: AT

1. Procédé de préparation du (S)-alpha-éthyl-2-oxo-1-pyrrolidineacétamide, caractérisé en ce que:

a. on fait réagir à une température comprise entre -10°C et -60°C l'acide (S)-alpha-éthyl-2-

2-oxo-1-pyrrolidineacétique successivement avec un halogénoformiate d'alkyle de formule HalCOOZ dans laquelle Hal représente un atome d'halogène et Z un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, et (2) de l'ammoniac; ou b. on cyclise dans un solvant inerte et en présence d'un catalyseur basique choisi parmi la 2-hydroxypyridine ou le bromure de tétrabutylammonium en présence d'hydroxyde de potassium, un (S)-2-amino-butanamide de formule



dans laquelle X représente un radical $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ ou $\text{HalCH}_2\text{-}$, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène, et Y représente un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ ou -CO- , avec la restriction que lorsque X représente un radical $\text{ZOOCH}_2\text{-}$, Y est un radical $\text{-CH}_2\text{-}$ et que lorsque X représente un radical $\text{HalCH}_2\text{-}$, Y est un radical -CO- .

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate d'alkyle de formule $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un 4-halogénobutyrate d'alkyle de formule $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z étant un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone et Hal un atome d'halogène.

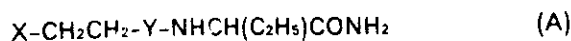
3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé de formule A est un (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halogénobutanamide de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ et en ce qu'il est préparé par condensation de (S)-2-amino-butanamide avec un halogénure de 4-halogénobutyryle de formule $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal étant un atome d'halogène.

Patentansprüche für die Vertragsstaaten: BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL und SE

1. (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinacetamid.

2. Verfahren zur Herstellung von (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinacetamid, dadurch gekennzeichnet, dass man (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinessigsäure nacheinander mit (1) einem Alkylhalogenformiat der Formel HalCOOZ , worin Hal ein Halogenatom und Z einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen darstellt, und (2) Ammoniak, bei einer Temperatur zwischen -10°C und -60°C , umsetzt.

3. Verfahren zur Herstellung von (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinacetamid, dadurch gekennzeichnet, dass man ein (S)-2-Amino-butanamid der Formel



worin X den Rest $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ oder $\text{HalCH}_2\text{-}$ darstellt, wobei Z ein Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffato-

men und Hal ein Halogenatom ist, und Y den Rest $\text{-CH}_2\text{-}$ oder -CO- darstellt, mit der Einschränkung, dass Y der Rest $\text{-CH}_2\text{-}$ ist, wenn X den Rest $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ darstellt und dass Y der Rest -CO- ist, wenn X den Rest $\text{HalCH}_2\text{-}$ darstellt, in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines basischen Katalysators ausgewählt aus 2-Hydroxypyridin oder Tetrabutylammoniumbromid in Gegenwart von Kaliumhydroxid, cyclisiert.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung der Formel A ein Alkyl-(S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrat der Formel $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ ist und dass sie durch Kondensation von (S)-2-Amino-butanamid mit einem Alkyl-4-halogenbutyrat der Formel $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, wobei Z die in Anspruch 3 angegebene Bedeutung hat und Ha ein Halogenatom ist, hergestellt ist.

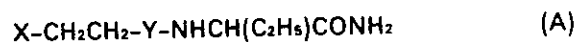
5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Verbindung der Formel A ein (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halogenbutanamid ist und dass sie durch Kondensation von (S)-2-Amino-butanamid mit einem 4-Halogenbutyrylhalogenid der Formel $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, wobei Hal ein Halogenatom ist, hergestellt ist.

6. Heilmittel, enthalten eine therapeutisch wirksame Menge eines (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinacetamids in Verbindung mit festen oder flüssigen, pharmazeutischen Hilfsstoffen.

Patentansprüche für den Vertragsstaat: AT

1. Verfahren zur Herstellung von (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinacetamid, dadurch gekennzeichnet, dass man

a. (S)-Alpha-äthyl-2-oxo-1-pyrrolidinessigsäure nacheinander mit (1) einem Alkyl-halogenformiat der Formel HalCOOZ worin Hal ein Halogenatom und Z einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen darstellt, und (2) Ammoniak, bei einer Temperatur zwischen -10°C und -60°C , umsetzt; oder b. ein (S)-2-Amino-butanamid der Formel



worin X den Rest $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ oder $\text{HalCH}_2\text{-}$ darstellt, wobei Z ein Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen und Hal ein Halogenatom ist, und Y den Rest $\text{-CH}_2\text{-}$ oder -CO- darstellt, mit der Einschränkung, dass Y der Rest $\text{-CH}_2\text{-}$ ist, wenn X den Rest $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ darstellt und dass Y der Rest -CO- ist, wenn X den Rest $\text{HalCH}_2\text{-}$ darstellt, in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines basischen Katalysators ausgewählt aus 2-Hydroxypyridin oder Tetrabutylammoniumbromid in Gegenwart von Kaliumhydroxid, cyclisiert.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung der Formel A ein Alkyl-(S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrat der Formel $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$ ist und dass sie durch Kondensa-

tion von (S)-2-Amino-butanamid mit einem Alkyl-4-halogenbutyrat der Formel $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, wobei Z die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat und Hal ein Halogenatom ist, hergestellt ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Verbindung der Formel A ein (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halogenbutanamid ist und dass sie durch Kondensation von (S)-2-Amino-butanamid mit einem 4-Halogenbutyrylhalogenid der Formel $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, wobei Hal ein Halogenatom ist, hergestellt ist.

Claims for the Contracting States: BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL and SE.

1. (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide.

2. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterised in that (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid is reacted, at a temperature between -10°C and -60°C , successively with (1) an alkyl haloformate of the formula HalCOOZ in which Hal represents a halogen atom and Z an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms, and with (2) ammonia.

3. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterised in that an (S)-2-amino-butanamide of the formula



in which X represents a ZOOCC- or $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom, and Y represents a $\text{-CH}_2\text{-}$ or -CO- radical, with the proviso that Y is a $\text{-CH}_2\text{-}$ radical when X represents a ZOOCC- radical and Y is a -CO- when X represents a $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, is cyclised in an inert solvent and in the presence of a basic catalyst selected from 2-hydroxypyridine or tetrabutylammonium bromide in the presence of potassium hydroxide.

4. Process according to claim 3, characterised in that the compound of formula A is an alkyl (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$ and that it is prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with an alkyl 4-halobutyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z having the meaning given in claim 3 and Hal being a halogen atom.

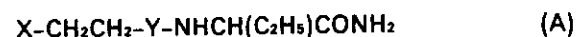
5. Process according to claim 3, characterised in that the compound of formula A is an (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halobutanamide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$ and that it is prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with a 4-halobutyryl halide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal being a halogen atom.

6. Therapeutic compositions containing a therapeutically effective amount of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide in association with solid or liquid pharmaceutical excipients.

Claims for the Contracting State: AT

1. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterised in that:

- (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid is reacted at a temperature between -10°C and -60°C , successively with (1) an alkyl haloformate of the formula HalCOOZ in which Hal represents a halogen atom and Z an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms, and with (2) ammonia; or
- an (S)-2-amino-butanamide of the formula



in which X represents a ZOOCC- or $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom, and Y represents a $\text{-CH}_2\text{-}$ or -CO- radical, with the proviso that Y is a $\text{-CH}_2\text{-}$ radical when X represents a ZOOCC- radical and Y is a -CO- radical when X represents a $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, is cyclised in an inert solvent and in the presence of a basic catalyst selected from 2-hydroxypyridine or tetrabutylammonium bromide in the presence of potassium hydroxide.

2. Process according to claim 1, characterised in that the compound of formula A is an alkyl (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$ and that it is prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with an alkyl 4-halobutyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom.

3. Process according to claim 1, characterised in that the compound of formula A is an (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halobutanamide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CONH}_2$ and that it is prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with a halobutyryl halide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal being a halogen atom.

REGISTER ENTRY FOR EP0162036

European Application No EP85870069.3 filing date 14.05.1985

Application in French

Priority claimed:

15.05.1984 in United Kingdom - doc: 8412357

Designated States BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE AT

Title (S)-ALPHA-ETHYL-2-OXO-1-PYRROLIDINACETAMIDE

Applicant/Proprietor

U C B, S.A., 326, Avenue Louise, B-1050 Bruxelles, Belgium

[ADP No. 50049394001]

Inventors

JEAN GOBERT, 120, rue du Cornet, B-1040 Bruxelles, Belgium

[ADP No. 53655577001]

JEAN-PIERRE GEERTS, 12, Habaru, B-6737 Leglise, Belgium

[ADP No. 53655585001]

GUY BODSON, 248, rue de la Chevratte, B-6739 Bellefontaine (Tintigny),
Belgium

[ADP No. 53655593001]

Classified to

C2C U1S

C07D A61K

Address for Service

VENNER SHIPLEY AND CO, 368 City Road, London EC1V 2QU, United Kingdom

[ADP No. 00804468001]

EPO Representative

RAYMOND DUSSELDORP, U.C.B. S.A. Département D.T.B. 326, avenue Louise, Bte
7, B-1050 Bruxelles, Belgium

[ADP No. 50451624001]

Publication No EP0162036 dated 21.11.1985 and granted by EPO 16.08.1989.

Publication in French

Examination requested 14.05.1985

Patent Granted with effect from 16.08.1989 (Section 25(1)) with title

(S)-ALPHA-ETHYL-2-OXO-1-PYRROLIDINACETAMIDE.. Translation filed 07.11.1989

18.10.1989 VENNER SHIPLEY AND CO, 368 City Road, London EC1V 2QU, United
Kingdom

[ADP No. 00804468001]

registered as address for service

Entry Type 8.11 Staff ID. JM1 Auth ID. AA

**** END OF REGISTER ENTRY ****

PATENTS ACT 1977

and

PATENTS (AMENDMENT) RULES 1987

I, JANET HOPE BSc, MIL, Member of the Institute of Translation and Interpreting, of Llyn y gors, Llandegfan, Menai Bridge, Gwynedd, LL59 5PN, Great Britain declare that I am conversant with the French and English languages and that to the best of my knowledge and belief the accompanying document is a true translation of the text on which the European Patent Office has granted European Patent No. 0,162,036 ~~+~~ in the name of U C B S.A. /

Signed this 28th day of August 1990



JANET HOPE

19 European Patent Office

11 Publication number: 0 162 036
B1

12

EUROPEAN PATENT SPECIFICATION

45 Date of publication of the patent
specification: 16.08.89

51 Int. Cl.⁴: C 07 D207/27, A 61 K 31/40

21 Application number: 85870069.3

22 Date of application: 14.05.85

54 (S)-alpha-Ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamides.

30 Priority: 15.05.84 GB 8412357

73 Patentee: U C B, S.A., 326, Avenue Louise,
B-1050 Bruxelles (BE)

43 Date of publication of the
application:
21.11.85 Bulletin 85/47

72 Inventor: Gobert, Jean, 120, rue du Cornet
B-1040 Bruxelles (BE)

45 Publication of the mention of granting
of the patent:
16.08.89 Bulletin 89/33

Inventor: Geerts, Jean-Pierre, 12, Habaru,
B-6737 Leglise (BE)

Inventor: Bodson, Guy, 248, rue de La Chevratte
B-6736 Bellefontaine (Tintigny) (BE)

84 Designated contracting states:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

74 Agent: Dusseldorp, Raymond et al, U.C.B. S.A.
Département D.T.B. 326, avenue Louise, Bte 7,
B-1050 Bruxelles (BE)

56 Citations:
FR-A-2 081 506
FR-A-2 368 275

Note: Any party is entitled to file an opposition against the granted European Patent at the European Patent Office within nine months of the publication of the mention of grant of the European Patent. opposition must be submitted in writing and with grounds. It is considered filed only when the opposition fee has been paid (Art. 99(1) European Patent Convention).

ACTORUM AG

The present invention relates to a new compound, (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, as well as to processes for its preparation. It also relates to therapeutic compositions containing the said compound.

- 5 British Patent no. 1,309,692 filed by the Applicant Company describes alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide (melting point 122°C), and states that substances of this type can be used in the therapeutic field, for example for the treatment of motion sickness, hyperkinesia, hypertension and epilepsy.

10

Moreover, it also mentions that these compounds can be used in the field of memory disorders in normal or pathological conditions.

- It is furthermore also known that alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide
15 possesses a protective activity against aggressions of the central nervous system caused by hypoxia, cerebral ischaemia etc. (Pharmazie, 37/11, (1982), 753-765).

- Continuing its research work in this field, the Applicant Company has
20 prepared and isolated the laevorotatory enantiomer of alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, and has found that this compound is distinguished in a completely unpredictable manner from the known racemic form

- (1) by a protective activity against hypoxia (anti-hypoxia) which is 10 times higher and
25 (2) by a protective activity against cerebral ischaemia (anti-ischaemia) which is 4 times greater.

- As a result of this unexpected combination of properties, the laevorotatory enantiomer of alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide is much more
30 suitable for the treatment and prevention of aggressions of the hypoxic and ischaemic type of the central nervous system. The important contribution of the hypoxic phenomenon in certain pathologies of the central nervous system suggests that this product has a therapeutic effect in the treatment of the consequences of cerebral vascular accidents and of cranial traumas,
35 of the sequelae of the ageing process or of circulatory insufficiencies of the central nervous system resulting from cerebroischaemic accidents or

hypoxia occurring e.g. during birth. In a broader sense, this product may also be used on conditions of the hypoxic type of other organs or tissues: heart and kidneys.

- 5 The present invention accordingly relates to the laevorotatory enantiomer of alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide which has the absolute S configuration, the said compound being substantially free from the dextrorotatory enantiomer having the absolute R configuration.
- 10 (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide according to the present invention cannot be obtained directly from the racemic form by separation of the two enantiomers. It may be prepared by one or other of the following processes:
 - 15 (a) (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid is reacted successively with (1) an alkyl haloformate of the formula HalCOOZ in which Hal represents a halogen atom and Z an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and with (2) ammonia. The alkyl haloformate is preferably ethyl chloroformate.
 - 20 This reaction is generally carried out in methylene chloride at a temperature between -10 and -60°C.
The (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid used in this reaction can be obtained from racemic ($\pm$)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid by chemical resolution in accordance with
 - 25 methods which are known per se, for example by forming a salt of this acid with an optically active base and isolating the salt formed with the (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid by successive crystallizations in a suitable solvent (e.g. benzene).
By way of examples of optically active bases which can be used for this
 - 30 resolution there may be mentioned alkaloids, such as brucine, quinine, strychnine, quinidine and cinchonidine, and amines, such as alpha-methyl-benzylamine and dehydroabietylamine (c.f. S.H. WILEN et al., Tetrahedron, 33, (1977), 2725-2736). Particularly favourable results are obtained by using alpha-methyl-benzylamine and dehydroabietylamine.
 - 35 The racemic ($\pm$)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid used as the starting material can be obtained by saponification of the

corresponding alkyl esters, the synthesis of which has been described in British Patent no. 1,309,692.

(b) An (S)-2-amino-butanamide of the formula



in which

X represents a $ZOOC-$ or $HalCH_2-$ radical, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom, preferably chlorine or bromine, and

Y represents a $-CH_2-$ or $-CO-$ radical, with the proviso that Y is a $-CH_2-$ radical when X represents a $ZOOC-$ radical and Y is a $-CO-$ radical when X represents a $HalCH_2-$ radical.

The cyclization of (S)-2-amino-butanamide of formula A is carried out in an inert solvent, such as toluene or methylene chloride, at a temperature between $0^\circ C$ and the boiling point of the solvent. This cyclization is carried out in the presence of a basic substance as a catalyst. This catalyst is 2-hydroxypyridine when the compound of formula A is an ester ($X = ZOOC-$) and tetrabutylammonium bromide when the compound of formula A is a halide ($X = HalCH_2-$).

When X represents a $ZOOC-$ radical and Y is a $-CH_2-$ radical, the compound of formula A is an alkyl (S)-4-[[1-aminocarbonyl]propyl]-amino]-butyrate of formula $ZOOCCH_2CH_2CH_2NHCH(C_2H_5)CONH_2$, in which Z has the meaning given above. The latter can be prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with an alkyl 4-halobutyrate of the formula $ZOOCCH_2CH_2CH_2-Hal$, in which Z has the meaning given above and Hal is a halogen atom.

When X represents a $HalCH_2-$ radical and Y is therefore a $-CO-$ radical, the compound of formula A is an (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-halo-butanamide of the formula $HalCH_2CH_2CH_2CONHCH(C_2H_5)CONH_2$, in which Hal has the meaning given above. The latter can be prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with a 4-halobutyryl halide of the formula $HalCH_2CH_2CH_2COHal$, in which Hal is a halogen atom.

The reaction between (S)-2-amino-butanamide on the one hand and the alkyl 4-halobutyrate or 4-halobutyryl halide on the other hand is generally carried out in an inert solvent, such as benzene, toluene, methylene chloride or acetonitrile, at a temperature between -5 and

+100°C and in the presence of an acid acceptor, such as a tertiary organic base (e.g. triethylamine) or an inorganic base (e.g. potassium carbonate or hydroxide or sodium carbonate or hydroxide).

When X represents a HalCH_2 - radical and Y a $-\text{CO}-$ radical, it is not essential to isolate the compound of formula A obtained from the starting materials mentioned above. In fact, the compound of formula A, obtained in situ, can be cyclized directly to the (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide according to the present invention (see example 4 below).

The (S)-2-amino-butanamide used as the starting material can be obtained from (S)-2-aminobutyric acid by ammonolysis of the corresponding methyl ester in accordance with the method described by K. FOLKERS et al. in J. Med. Chem. 14, (6), (1971), 484-487.

The examples which follow illustrate the invention without limiting it.

In these examples, the optical purity of the products obtained was verified by calorimetric determination of the differential enthalpies (C. FOUQUEY AND J. JACQUES, Tetrahedron, 23, 1967, 4009-19).

Example 1. a) Preparation of the (R)-alpha-methyl-benzylamine salt of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid.

8.7 kg (50.8 mol) racemic (±)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid are suspended in 21.5 litres anhydrous benzene in a 50 litre reactor. A solution containing 3.08 kg (25.45 mol) (R)-(+)-alpha-methyl-benzylamine and 2.575 kg (25.49 mol) triethylamine in 2.4 litres anhydrous benzene is progressively added to this suspension. The mixture is then heated under reflux until complete dissolution is achieved. It is cooled and allowed to crystallize for a few hours. 5.73 kg (R)-alpha-methyl-benzylamine salt of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid are thus obtained.

m.p.: 148 - 151°C. Yield: 77.1%.

This salt may be purified by heating under reflux in 48.3 litres benzene for 4 hours. The mixture is cooled and filtered. 5.040 kg of the desired salt are thus obtained.

m.p.: 152 - 153.5°C. Yield: 67.85%.

b) Preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid

- 5.04 kg salt obtained in a) above are dissolved in 9 litres water. 710 g of a 30% solution of sodium hydroxide are added slowly. The pH reaches 12.6 and the temperature does not exceed 25°C. The solution is stirred for a further 20 minutes and the alpha-methyl-benzylamine liberated is extracted several times with a total volume of 18 litres benzene. The aqueous phase is then acidified to a pH of 1.1 by addition of 3.2 litres 6 N hydrochloric acid. The precipitate formed is filtered off, washed with water and dried.
- 10 The filtrate is extracted several times with a total volume of 50 litres methylene chloride. The organic phase is dried over sodium sulphate, filtered and evaporated to dryness under reduced pressure. The residue obtained after evaporation and the precipitate isolated previously are dissolved together in 14 litres hot methylene chloride. The
- 15 methylene chloride is distilled and replaced at the distillation rate by 14 litres toluene, in which the product crystallizes. The mixture is cooled to ambient temperature and the crystals are filtered. 2.780 kg (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid are thus obtained.
- m.p.: 125.9°C. $[\alpha]_D^{20} = -26.4^\circ$ (c = 1, acetone).
- 20 Yield: 94.5%.

c) Preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide

- 34.2 g (0.2 mol) (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid are suspended in 225 ml methylene chloride, cooled to -30°C. 24.3 g (0.24 mol)
- 25 triethylamine are added dropwise in the course of 15 minutes. The reaction mixture is then cooled to -40°C and 24.3 g (0.224 mol) ethyl chloroformate are added in the course of 12 minutes. A stream of ammonia is then passed through for 4 and a half hours. The mixture is allowed to return to ambient temperature and the ammonium salts formed are removed by filtration
- 30 and washed with methylene chloride. The solvent is distilled off under reduced pressure. The solid residue thus obtained is dispersed in 55 ml toluene, the dispersion is stirred for 30 minutes and then filtered and the product is recrystallized from 280 ml ethyl acetate in the presence of 9 g molecular sieve 0.4 nm in powder form.
- 35 24.6 g (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide are obtained.
- m.p.: 115 - 118°C. $[\alpha]_D^{25} = -89.7^\circ$ (c = 1, acetone). Yield: 72.3%.

Analysis for $C_8H_{14}N_2O_2$ in %

calculated:	C 56.45	H 8.29	N 16.46
found:	56.71	8.22	16.48

5 The racemic ($\pm$)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid used in this synthesis was prepared in the manner described below.

A solution containing 788 g (19.7 mol) sodium hydroxide in 4.35 litres water is added in the course of two hours to a 20 litre flask containing 3.65 kg (18.34 mol) ethyl ($\pm$)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetate at a temperature not exceeding 60°C. When this addition has ended, the temperature of the mixture is raised to 80°C and the alcohol formed is distilled off until the temperature of the mixture reaches 100°C. The mixture is cooled to 0°C and 1.66 litres (19.80 mol) 12 N hydrochloric acid are added in the course of 2 and a half hours. The precipitate is filtered off, washed with two litres toluene and recrystallized from isopropyl alcohol. 2.447 kg racemic ($\pm$)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid of melting point 155 - 156°C are thus obtained. Yield: 78%.

Analysis for $C_8H_{13}NO_3$ in %

calculated:	C 56.12	H 7.65	N 8.18
found:	55.82	8.10	7.97

Example 2. a) Preparation of ethyl (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate

143.6 ml (1.035 mol) triethylamine are added to a suspension of 47.75 g (0.345 mol) (S)-2-amino-butanamide hydrochloride ($[\alpha]_D^{25}$: +26.1°C; c = 1, methanol) in 400 ml toluene. The mixture is heated to a 80°C and 67.2 g (0.345 mol) ethyl 4-bromobutyrate are introduced dropwise.

The reaction mixture is kept at 80°C for 10 hours and then filtered hot to remove the triethylamine salts. The filtrate is evaporated under reduced pressure and 59 g of an oily residue consisting mainly of the monoalkylation product and containing a little dialkylated derivative are obtained.

The product obtained in the crude state was used as such, without additional purification, in the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide by cyclization.

b) Preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide

54 g crude product obtained in a) above are dissolved in 125 ml toluene in the presence of 2 g 2-hydroxypyridine. The mixture is kept at 110°C for 12 hours.

- 5 The insoluble matter is filtered off hot and the filtrate is then evaporated under reduced pressure.

The residue is purified by chromatography on a column of 1.1 kg silica (column diameter: 5 cm; eluent: a mixture of ethyl acetate, methanol and concentrated ammonia in proportions by volume of 85:12:3).

- 10 The product isolated is recrystallized from 50 ml ethyl acetate. 17.5 g (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide are thus obtained.

m.p.: 117°C. $[\alpha]_D^{25}$: -90.0° (c = 1, acetone). Yield: 41%.

Example 3. a) Preparation of (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chloro-
15 butanamide

345.6 g (2.5 mol) ground potassium carbonate and 138.5 g (1 mol) (S)-2-amino-butanamide hydrochloride are mixed in 2.5 litres acetonitrile. The reaction mixture is cooled to 0°C and a solution of 129.2 g (1.2 mol) 4-chlorobutyryl chloride in 500 ml acetonitrile is introduced dropwise.

- 20 After the addition, the reaction mixture is allowed to return to ambient temperature; the insoluble matter is removed by filtration and the filtrate is evaporated under reduced pressure. The crude residue obtained is stirred in 1.2 litres anhydrous ether for 30 minutes at a temperature between 5 and 10°C. The precipitate is filtered off, washed with 2
25 portions of 225 ml ether and dried in vacuo. 162.7 g (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chlorobutanamide are thus obtained.

m.p.: 118 - 123°C. $[\alpha]_D^{25}$: -18° (c = 1, methanol). Yield: 78.7%.

The crude product thus obtained is particularly suitable for the cyclization stage which follows. However, it can be purified by stirring

- 30 for one hour in anhydrous ethyl acetate.

m.p.: 120 - 122°C. $[\alpha]_D^{25}$: -22.2° (c = 1, methanol).

2) Preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide

6.2 g (0.03 mol) (S)-N-[1-(aminocarbonyl)propyl]-4-chlorobutanamide and

- 35 0.484 g (0.0015 mol) tetrabutylammonium bromide are mixed in 45 ml methylene chloride at 0°C under a nitrogen atmosphere. 2.02 g (0.036 mol)

Excess verulent potassium hydroxide are added in the course of 30 minutes without exceeding +2°C in the reaction mixture. The mixture is subsequently stirred for one hour, a further 0.1 g (0.0018 mol) ground potassium hydroxide is then added and stirring is continued at 0°C for 30 minutes. The mixture is allowed to return to ambient temperature. The insoluble matter is removed by filtration and the filtrate is concentrated under reduced pressure. The residue obtained is recrystallized from 40 ml ethyl acetate in the presence of 1.9 g 0.4 nm molecular sieve, which is removed by hot filtration. 3.10 g (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide are thus obtained.

m.p.: 116.7°C. $[\alpha]_D^{25}$: -90.1° (c = 1, acetone). Yield: 60.7%.

Example 4. Preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide

This examples illustrates a variant of the process of example 3, in which the intermediate 4-chlorobutanamide obtained in situ is not isolated.

84 g anhydrous sodium sulphate are added to a suspension of 69.25 g (0.5 mol) (S)-2-amino-butanamide hydrochloride in 600 ml methylene chloride at ambient temperature. The mixture is cooled to 0°C and 115 g ground potassium hydroxide followed by 8.1 g (0.025 mol) tetrabutylammonium bromide, dissolved in 100 ml methylene chloride, are added. A solution of 77.5 g 4-chlorobutyl chloride in 100 ml methylene chloride is added dropwise at 0°C, with vigorous stirring. After 5 hours of reaction, a further 29 g ground potassium hydroxide are added. Two hours later, the reaction mixture is filtered over Hyflo-cell (Hyflo-cell is a brand name) and the filtrate is evaporated under reduced pressure. The residue (93.5 g) is dispersed in 130 ml hot toluene for 45 minutes. The mixture is filtered and the filtrate is evaporated under reduced pressure. The residue (71.3 g) is dissolved hot in 380 ml ethyl acetate, to which 23 g 0.4 nm molecular sieve in powder form are added. This mixture is heated under reflux and filtered hot. After cooling the filtrate, the desired product crystallizes. 63 g (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide are thus obtained.

m.p.: 117°C. $[\alpha]_D^{25}$: -91.3° (c = 1, acetone). Yield: 74.1%.

Pharmacological tests

Racemic alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide (product A) and (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide (product B) according to the present invention were subjected to pharmacological tests.

I. Protection against hypoxia (mouse).

a. Principle (C. GIURGEA and F. MOURAVIEFF-LESUISSE; Proc.Xth Intern. Congr. of the Coll.Intern.Neuro-psych. - Pergamon Press, Oxford and New York, 1978, p.1623-1631).

The principle of this test lies in measuring the possibilities of survival of the organism subjected to an atmosphere in which the oxygen level is progressively decreased. Due to the particular sensitivity of the nervous system to this type of aggression, the results obtained in this test can be interpreted as a measure of the resistance of the nervous system. The products which increase the resistance of the animals are consequently suitable for the treatment and prevention of aggressions of the hypoxic type of the central nervous system.

b. Method.

The apparatus consists of an airtight transparent cage measuring 37 cm high, 39 cm deep and 97 cm wide. This 140 litre cage is provided with 60 transparent compartments of 6 x 10 x 10 cm for separate accommodation of 60 mice.

A fan ensures mixing of the atmosphere which circulates between the compartments through a grid floor. The cage is equipped with a device for introducing nitrogen at a constant flow rate, and with an opening communicating with the ambient air.

The animals are male mice (NMRI strain) of 20 to 22 g. These are fasted from the day before the test. The experiment is carried out on the following day, simultaneously on three groups of 20 mice; a control group receives water (25 ml/kg) orally, and the other two groups each receive, perorally, a product to be tested.

Twenty-five minutes after the administration, the animals are distributed randomly amongst the compartments so that none of the

three groups of animals is located in a preferential area of the cage. Thirty minutes after the administration, the cage is closed and nitrogen is admitted at a constant flow rate (7.750 litres industrial nitrogen per minute) for about 37 minutes; the atmosphere thus contains 3.7% oxygen.

The cage remains closed until the critical moment when no more than three survivors are observed amongst the twenty control animals. At this moment, the cage is opened and ambient air is admitted. A few moments later, the survivors in each group of animals are counted.

For each dose of product to be tested, the experiments are repeated once or twice, and the results are pooled to give a minimum of 40 (or 60) animals treated per dose and 40 (or 60) corresponding control animals.

For each dose of product tested, the number of surviving animals amongst those treated with the product is compared with the number of surviving animals amongst the control animals. The difference between these numbers expresses the protective activity of the product against hypoxia caused by lack of oxygen. The statistical significance (P) of this difference is evaluated by the Fischer-Yates test.

c. Results.

Table I below gives the results obtained for increasing doses of products Z and B.

TABLE I

	<u>Product tested</u>	<u>Oral dose in mmol/kg</u>	<u>Number of surviving animals</u>		<u>P</u>
			<u>controls</u>	<u>treated</u>	
30	A	0.032	12/60	16/60	NS
		0.1	8/60	7/60	NS
		0.16	12/60	12/60	NS
		0.32	10/60	30/60	<0.001
35	B	0.016	5/40	11/40	NS
		0.032	8/40	17/40	<0.6

TABLE I (contd.)

<u>Product tested</u>	<u>Oral dose in mmol/kg</u>	<u>Number of surviving animals</u>		<u>P</u>
		<u>controls</u>	<u>treated</u>	
	0.1	6/40	19/40	<0.005
	0.16	6/40	19/40	<0.005
	0.32	5/40	17/40	<0.01

10 NS = difference not significant.

d. Conclusions.

15 In this test, the laevorotatory enantiomer, according to the invention (product B) increases the survival of the animals deprived of oxygen from a dose of 0.032 mol/kg. The racemate (product A) exerts a similar activity only from 0.32 mmol/kg (first effective dose), and is thus 10 times less active than the laevorotatory enantiomer.

20 II. Protection from cerebral ischaemia (rats).

a. Principle (C.GIURGEA and F. MOURAVIEFF-LESUISSE; loc.cit. under I.a.).

25 Electroencephalographic controls have shown that ligation of the two common carotids in the rat causes a true cerebral ischaemia: the electroencephalogram trace flattens and even becomes isoelectric (electric silence).

b. Method

30 Male Wistar rats weighing 250 and 350 g are anaesthetized with pentobarbital administered intraperitoneally in a dose of 50 mg/kg (0.5 ml/100 g).

35 Immediately after the anaesthesia, either the product to be tested, dissolved in a isotonic solution of sodium chloride (treated animals), or only an isotonic solution of sodium chloride or placebo (control animals) is administered intraperitoneally in an amount of 0.5 ml/100 g to the animals.

About 20 minutes later, the two common carotids are exposed and about ten minutes later they are ligatured simultaneously. This operation is effected simultaneously on the control animals and on the treated animals.

5 One hour after administration of the product to be tested or of the placebo, the same dose of either the product to be tested (to the treated animals) or the placebo (to the control animals) is administered again intraperitoneally.

10 Five hours after the first administration, a dose either of the product to be tested (to the surviving treated animals) or of placebo (to the surviving control animals) is injected a third time.

Twenty-four hours after the first administration, the efficacy of the ligature is verified in all the animals under pentobarbital anaesthesia by section of the carotids downstream of the ligature.

15 The number of surviving animals is recorded amongst both the treated animals and the control animals. For each dose of product tested, the number of surviving animals amongst those treated with the product is compared with the number of surviving animals amongst the control animals. The difference expresses the protective activity of the compound against the lethality induced by the simultaneous ligature of the two carotids. The statistical significance (P) of this difference is evaluated by the Brandt-Snedecor test.

c. Results.

25 Table II below gives the results obtained for increasing doses of products A and B:

TABLE II

Product tested	ip dose in mmol/kg	Number of surviving animals		<u>P</u>
		<u>controls</u>	<u>treated</u>	
A	0.32	6/29	8/29	NS
	0.64	11/30	21/30	0.01
B	0.1	9/29	14/29	NS
	0.16	6/29	14/30	0.05

TABLE II (contd.)

<u>Product tested</u>	<u>ip dose in mmol/kg</u>	<u>Number of surviving animals</u>		<u>P</u>
		<u>controls</u>	<u>treated</u>	
5	0.32	8/30	19/29	0.01

NS = difference not significant.

d. Conclusions.

10 Table II shows that the racemate (product A) is only active from a dose of 0.64 mmol/kg. In contrast, the laevorotatory enantiomer according to the invention (product B) protects the animals from the lethality induced by simultaneous ligation of the two carotids from 0.16 mmol/kg and thus proves to be 4 times more active than the
15 • racemate.

III. Toxicity

Table III below gives, for the products A and B, the LD 50 in mg/kg intravenously determined on the male mouse and the male rat:

20

TABLE III

	<u>Product tested</u>	<u>LD 50 in mg/kg</u>	
		<u>mouse</u>	<u>rat</u>
25	A	1790	1500
	B	1081	1038

30

It can be seen from this table that the laevorotatory enantiomer according to the invention (product B) is, like the racemate (product A) of very low toxicity and that the toxic dose is well above the active dose.

35

The compound according to the present invention can be administered either orally in the form of solid or liquid compositions, for example in the form of tablets, capsules, coated tablets, gelatin capsules, solutions or syrups, or parenterally in the form of injectable solutions or suspensions.

The pharmaceutical forms such as solutions or tablets are prepared by the methods conventionally used by pharmacists. The compound according to the invention is mixed with a solid or liquid, non-toxic, pharmaceutically acceptable carrier and if appropriate with a dispersing agent, a stabilizer and, if necessary, with colouring agents, sweeteners etc.

Solid pharmaceutical excipients for preparation of tablets or capsules are, for example, starch, talc, calcium carbonate, lactose, sucrose, magnesium stearate etc.

The percentage of active product in the pharmaceutical compositions can vary within very wide limits, depending on the mode of administration and the condition of the patient, and the dosage for humans can vary between 250 mg and 3 g per day under these conditions. As a non-limiting example of a composition containing the compound according to the invention, there is given below an example of a capsule of 100 mg which can be used orally.

Product B	100 mg
Avicel*	217 mg
Mg stearate	5 mg

*Avicel is a brand name for a microcrystalline cellulose.

CLAIMS for the Contracting States: BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE.

1. (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide.

5 2. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterized in that (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid is reacted, at a temperature between -10°C and 60°C , successively with (1) an alkyl haloformate of the formula HalCOOZ , in which Hal represents a halogen atom and Z an alkyl radical having 1 to 4 carbon
10 atoms and with (2) ammonia.

3. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterized in that an (S)-2-amino-butanamide of the formula

15 .



in which X represents a $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ or $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom, and

20 Y represents a $\text{-CH}_2\text{-}$ or -CO- radical, with the proviso that Y is a $\text{-CH}_2\text{-}$ radical when X represents a $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ radical and Y is -CO- radical when X represents a $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, is cyclized in an inert solvent and in the presence of a basic catalyst selected from 2-hydroxypyridine or tetrabutylammonia bromide in the
25 presence of potassium hydroxide.

4. Process according to claim 3, characterized in that the compound of formula A is an alkyl (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate of the formula $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$, and in that it is prepared by
30 condensing (S)-2-amino-butanamide with an alkyl 4-halobutyrate of the formula $\text{ZOOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z having the meaning given in claim 3 and Hal being a halogen atom.

5. Process according to claim 3, characterized in that the compound of
35 formula A is an (S)-N-[1-(aminocarbonyl)-propyl]-4-halobutanamide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$, and in that it is prepared by

condensing (S)-2-amino-butanamide with a 4-halobutyryl halide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal being a halogen atom.

6. Therapeutic compositions containing a therapeutically effective amount of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide in association with solid or liquid pharmaceutical excipients.

10

15

20

25

30

35

CLAIMS for the Contracting State: AT

1. Process for the preparation of (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetamide, characterized in that

- 5 a) (S)-alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid is reacted, at a temperature between -10°C and 60°C , successively with (1) an alkyl haloformate of the formula HalCOOZ , in which Hal represents a halogen atom and Z an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and with (2) ammonia; or
- 10 b) an (S)-2-amino-butanamide of the formula



in which

- 15 X represents a $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ or $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom, and
- Y represents a $\text{-CH}_2\text{-}$ or -CO- radical,
- with the proviso that Y is a $\text{-CH}_2\text{-}$ radical when X represents a $\text{ZOOCH}_2\text{-}$ radical and Y is -CO- radical when X represents a $\text{HalCH}_2\text{-}$ radical, is
- 20 cyclized in an inert solvent and in the presence of a basic catalyst selected from 2-hydroxypyridine or tetrabutylammonia bromide in the presence of potassium hydroxide.

2. Process according to claim 1, characterized in that the compound of
- 25 formula A is an alkyl (S)-4-[[1-(aminocarbonyl)propyl]amino]-butyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$, and in that it is prepared by condensing (S)-2-amino-butanamide with an alkyl 4-halobutyrate of the formula $\text{ZOOCCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Hal}$, Z being an alkyl radical having 1 to 4 carbon atoms and Hal a halogen atom.

30

3. Process according to claim 1, characterized in that the compound of formula A is an (S)-N-[1-(aminocarbonyl)-propyl]-4-halobutanamide of the formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH(C}_2\text{H}_5\text{)CONH}_2$, and in that it is prepared by
- condensing (S)-2-amino-butanamide with a 4-halobutyryl halide of the
- 35 formula $\text{HalCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COHal}$, Hal being a halogen atom.