

①2 DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 20.08.91.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : 26.02.93 Bulletin 93/08.

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

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

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

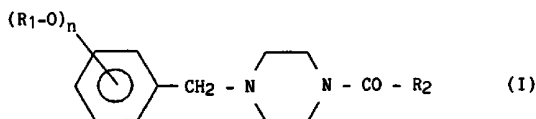
⑦2 Inventeur(s) : Gaudry Michel, Pfeiffer Bruno, Renard Pierre, Renaud de la Faverie Jean-François et Adam Gérard.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire :

⑤4 Nouveaux composés amidiques des 1-(alcoxybenzyl)piperazines, leurs procédés de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

⑤7 Composés de formule (I):



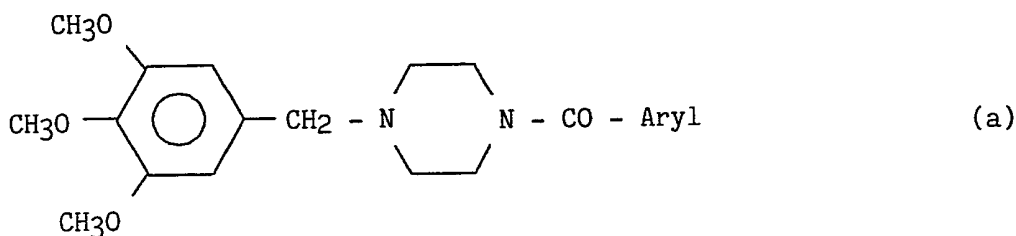
avec R₁, R₂, et n tels que définis dans la description.
Médicaments.



L'invention concerne de nouveaux composés amidiques des 1-(alcoxybenzyl)pipérazines, leurs procédés de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

On connaît dans la littérature de nombreux composés amidiques des 1-(alcoxybenzyl)pipérazines.

Ainsi certains composés de formule générale (a) :



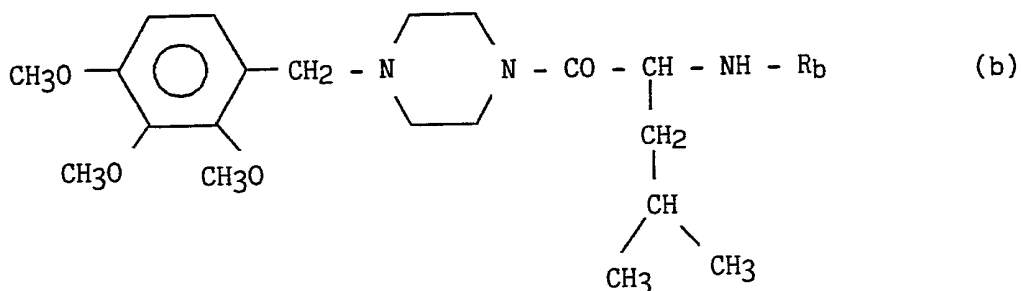
sont décrits comme antagonistes du Platelet Activating Factor ou P.A.F. (EP 318 235, EP 284 359).

D'autres composés comportant un groupement oxo-4 quinol-3 yl possèdent des propriétés anti-inflammatoires (JP 8 961 461), et des composés possédant un groupement benzamidique sont présentés comme inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (EP 171 636).

On note également que certains cinnamides de 1-(alcoxybenzyl)pipérazines sont décrits comme antihypertenseurs (US 436 8199).

Structurellement plus proches des composés de l'invention, on connaît dans la littérature des dérivés pyroglutamidiques de la 1-(p-méthoxybenzyl)pipérazine décrits comme possédant une activité nootrope (DE 3 701 494).

On connaît également des composés de formule (b) :



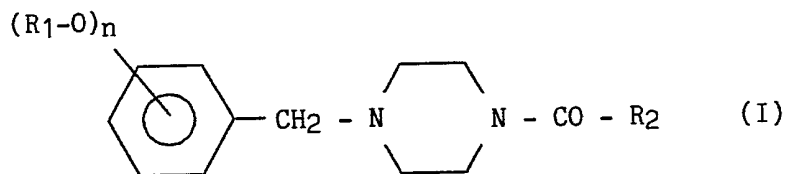
dans laquelle R_b représente un groupe protecteur pour la fonction amine d'un aminoacide, pour lesquels aucune activité pharmacologique n'a été mentionnée et qui sont utilisés comme intermédiaires de synthèse de composés caractérisés par la présence d'un cycle oxirane et présentés

5 notamment comme inhibiteurs d'enzymes protéolytiques (Biochemical Pharmacology 1985 ; vol 34 (n° 21) : 3875 - 3880 et *Arzneim - Forsch* - 1986 ; vol 36 (n° 4) : 671 - 675).

La demanderesse a présentement découvert de nouveaux composés amidiques d'alcoxybenzyl pipérazines qui possèdent une action antiischémique et antianoxique, tant au niveau cérébral qu'au niveau

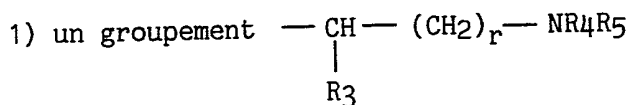
10 périphérique, nettement supérieure à celle des 1-(alcoxybenzyl) pipérazines les plus proches comme la trimétazidine ou 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) pipérazine.

15 Plus spécifiquement, l'invention concerne les composés de formule générale (I) :



dans laquelle :

- n nombre entier peut prendre les valeurs 1, 2, ou 3,
- 20 - R_1 est un alkyle linéaire ou ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone,
- R_2 représente :



dans lequel :

- r nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2,

- R₃ représente :

- 5
- . a) un atome d'hydrogène,
 - . b) un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone éventuellement substitué par un groupement choisi parmi :

i) -OH, ou -COOH,

10 ii) -O-R₆, -CO-R₆, -CO-O-R₆, -O-CO-R₆, ou -O-CO-O-R₆ avec R₆ étant un groupement choisi parmi : alkyle linéaire ou ramifié saturé insaturé ou polyinsaturé de 1 à 12 atomes de carbone, et -(CH₂)_m-phényle éventuellement substitué où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

15 iii) -NR₇R₈ avec R₇ et R₈, identiques ou différents, représentant chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, -CO-R₆ ou -CO-O-R₆ avec R₆ ayant la même signification que précédemment, et -(CH₂)_m-phényle éventuellement substitué, où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

20

25 iv) -CO-NR₉R₁₀ avec R₉ et R₁₀, identiques ou différents, ayant la même définition que R₆ avec R₆ tel que défini précédemment, ou pouvant également représenter un atome d'hydrogène, ou former ensemble avec l'atome d'azote qui les porte en système cyclique de 5 à 7 sommets pouvant comprendre éventuellement un second hétéroatome choisi parmi oxygène, azote, soufre,

v) -SH, ou -SeH,

vi) un groupement $-S-R_6$, $-Se-R_6$, $-S-CO-O-R_6$, $-S-S-R_6$ ou $-Se-Se-R_6$ avec R_6 tel que défini précédemment,

vii) guanidino,

viii) nitro-3 guanidino,

5 ix) un groupement indole ou imidazole éventuellement substitué,

. c) un groupement $-(CH_2)_m$ -phényle éventuellement substitué où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

étant entendu que R_3 ne peut pas représenter un groupement isobutyle,

10 - R_4 représente un atome d'hydrogène, un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, un groupement $-(CH_2)_p$ -phényle éventuellement substitué où p nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3, ou forme avec R_3 et les atomes auxquels ils sont liés un système mono ou bicyclique choisi parmi : pyrrolidine, pipéridine, perhydroindole, indoline, 2-aza bicyclo[2, 2, 2]octane, et 2-aza bicyclo[3, 3, 0]octane, ces systèmes cycliques pouvant être éventuellement substitués par un ou plusieurs groupements choisis parmi :

20 hydroxy, oxo, alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, alcoxy linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone,

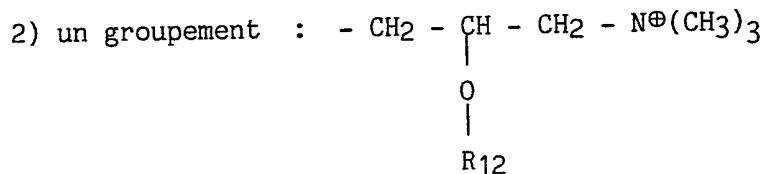
avec la réserve que si $n = 1$ alors R_3 et R_4 ne peuvent pas former ensemble, avec les atomes auxquels ils sont liés, une pyrrolidine substitué par un groupement oxo en α de l'azote,

25 - R_5 représente :

- un atome d'hydrogène,

- un groupement $-(CH_2)_q$ -phényle éventuellement substitué où q nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

- une chaîne alkyle de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée, insaturée ou polyinsaturée, éventuellement interrompue par un ou plusieurs atomes d'oxygène, de soufre, ou d'azote, et éventuellement substituée par un ou plusieurs hydroxy, amino, alkylamino ou alcoxy contenant de 1 à 6 atomes de carbone,
- un groupement $-\text{CO}-\text{R}_{11}$ ou $-\text{CO}-\text{O}-\text{R}_{11}$ où R_{11} représente :
 - . une chaîne alkyle de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée, insaturée ou polyinsaturée, éventuellement interrompue par un ou plusieurs atomes d'oxygène, de soufre, ou d'azote, et éventuellement substituée par un ou plusieurs hydroxy, amino, alkylamino ou alcoxy contenant de 1 à 6 atomes de carbone,
 - . un groupement $-(\text{CH}_2)_q$ -phényle éventuellement substitué où q nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,



dans lequel :

- R_{12} représente :
 - . un atome d'hydrogène,
 - . un groupement $-\text{CO}-\text{R}_6$, ou $-\text{CO}-\text{O}-\text{R}_6$ avec R_6 ayant la même signification que précédemment,

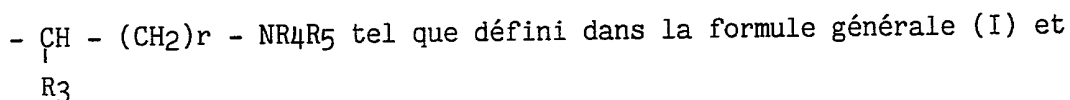
le terme substitué associé aux expressions " $-(\text{CH}_2)_m$ -phényle", " $-(\text{CH}_2)_p$ -phényle", " $-(\text{CH}_2)_q$ -phényle", "imidazole", et "indole" signifie que ces radicaux peuvent être substitués sur le cycle par un ou plusieurs groupements choisis parmi : hydroxy, halogène, nitro, trifluorométhyle, alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, alcoxy linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, $-(\text{CH}_2)_t$ -phényle, et $-\text{O}-(\text{CH}_2)_t$ -phényle où t nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

- leurs isomères, diastéréoisomères, épimères, isolés ou sous forme de mélange ainsi que, le cas échéant, leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

5 La présente invention a également pour objet le procédé de préparation des composés de formule (I), caractérisé en ce que l'on condense, en utilisant les techniques de couplage classiques passant par la formation d'un ester activé (hydroxy succinimide, hydroxybenzotriazole... en présence de dicyclohexyl carbodiimide), un composé de formule (II) :

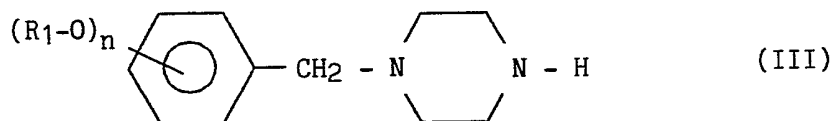


dans laquelle R'_2 a la même signification que R_2 dans la formule générale (I) avec la réserve que lorsque R'_2 représente un groupement

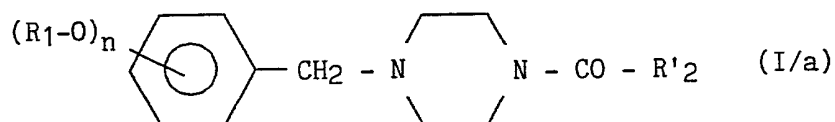


15 que R_4 représente un atome d'hydrogène, alors R_5 représente un groupement $-\text{CO}-\text{R}_{11}$ ou $-\text{CO}-\text{O}-\text{R}_{11}$ avec R_{11} ayant la même signification que dans la formule générale (I),

avec une (alcoxybenzyl)pipérazine de formule (III) :



20 dans laquelle R_1 et n sont tels que définis dans la formule (I) afin d'obtenir un composé de formule (I/a) :



dans laquelle R₁, R'₂ et n sont tels que définis précédemment,

composés de formule (I/a) qui sont, dans le cas où R₅ représente un groupement -CO-O-R₁₁, éventuellement soumis si on le désire, aux réactions de déprotection des fonctions aminées en synthèse peptidique (traitement acide ou hydrogénation catalytique suivant la nature de R₁₁) afin d'accéder aux composés de formule (I) pour lesquels R₅ représente un hydrogène,

les composés de formule (I) peuvent, si nécessaire être purifiés, par une technique classique comme la cristallisation et/ou la chromatographie sur colonne de silice,

ils peuvent également être salifiés, soit avec un acide pharmaceutiquement acceptable, soit, si cela est possible et si on le désire avec une base pharmaceutiquement acceptable.

Les matières premières utilisées dans le procédé précédemment décrit sont

- soit commerciales,
- soit aisément accessibles à l'homme de l'art selon des procédés décrits dans la littérature.

Comparés à la trimétazidine, les composés de la présente invention présentent tant in vivo que in vitro une activité protectrice cellulaire très largement supérieure, notamment au niveau cérébral.

Les tests réalisés in vitro, sur des astrocytes de rats en culture, placés en condition hypoxique, ont montré que les composés de la présente invention protégeaient de façon remarquable, et bien supérieure à celle de la trimétazidine, l'intégrité cellulaire de ces astrocytes.

D'autres tests effectués in vivo chez la gerbille ont montré que les composés de l'invention augmentaient de façon significative et largement supérieure à celle de la trimétazidine la survie des animaux chez lesquels on provoque une ischémie cérébrale par ligature de la carotide gauche et retardaient de façon importante l'apparition des premières suffocations chez des animaux que l'on place en condition d'hypoxie normobare.

Les remarquables propriétés des composés de la présente invention les rendent précieux notamment au niveau cérébral pour le traitement et la prévention de l'ischémie cérébrale, de l'hypoxie vasculaire cérébrale, de l'anoxie vasculaire cérébrale et des oedèmes cérébraux.

5 Plus généralement, le pouvoir protecteur des composés de la présente invention leur confère un intérêt certain dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux d'origines diverses, des traumatismes crâniens, des encéphalopathies, des maladie neuro-dégénératives et des troubles de la sénescence.

10 La capacité des composés de l'invention à protéger les cellules au cours d'une hypoxie permet également leur utilisation dans le traitement et la prévention de l'ischémie de type périphérique, notamment en cardiologie l'ischémie myocardique et l'ischémie coronarienne et leurs
15 différentes expressions cliniques : angine de poitrine, infarctus du myocarde, troubles du rythme, spasme vasculaire, insuffisance cardiaque, ainsi qu'en ophtamologie et en oto-rhino-laryngologie lors d'atteintes vasculaires chorio-rétiniennes, de vertiges d'origine vasculaire, de vertiges de Menière ou d'acouphènes.

L'invention concerne également les sels d'addition des composés de
20 formule (I) obtenus avec une base ou un acide minéral ou organique, pharmaceutiquement acceptable.

Parmi les acides pharmaceutiquement acceptables que l'on peut
utiliser pour former un sel d'addition avec les composés de l'invention, on peut citer, à titre d'exemple, les acides chlorhydrique, sulfurique,
25 phosphorique, tartrique, malique, maléique, fumarique, oxalique, méthanesulfonique, éthanesulfonique, camphorique, citrique, etc...

Comme bases pharmaceutiquement acceptables pouvant salifier les
composés de formule (I) on pourra utiliser les hydroxydes de sodium, de potassium, de calcium ou d'aluminium, les carbonates de métaux alcalins ou
30 alcalinoterreux ou les bases organiques comme la triéthylamine, la

benzylamine, la diéthanolamine, la tert-butylamine, la dicyclohexylamine, l'arginine, etc...

L'invention s'étend aussi aux compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif un composé de formule générale (I) ou un de ses sels d'addition, avec une base ou un acide, minéral ou organique, en association avec un ou plusieurs excipients inertes, non toxiques convenant pour l'usage pharmaceutique et/ou un agent liant, un agent aromatisant, un agent de délitement, un agent édulcorant, un agent lubrifiant ou bien encore un véhicule liquide adapté à l'administration par voie intraveineuse, tel que l'eau stérile apyrogène.

Parmi les compositions pharmaceutiques selon l'invention, on pourra citer, plus particulièrement celles qui conviennent pour l'administration orale, parentérale, oculaire, per ou transcutanée, nasale, rectale perlinguale, ou respiratoire et notamment les préparations injectables, les aérosols, les gouttes oculaires ou nasales, les comprimés, les comprimés sublinguaux, les gélules, capsules, tablettes, glossettes, suppositoires, crèmes, pommades, gels, etc...

Les compositions ainsi obtenues se présentent généralement sous forme dosée et peuvent contenir selon les affections traitées, l'âge et le sexe du malade, de 0,1 à 500 mg de principe actif.

Elles peuvent selon le cas être administrées par voie orale, rectale ou parentérale à la dose de 0,1 à 500 mg de une à plusieurs fois par jour.

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

EXEMPLE 1 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[S-BENZYL N-BENZYLOXYCARBONYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

Stade A : N-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cytéinyl]oxy succinimide.

Ajouter 29,4 mmoles de N-hydroxysuccinimide en solution dans 30 cm³ de chlorure de méthylène, à 29,4 mmoles de S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine en solution dans 20 cm³ de chlorure de méthylène. Refroidir à 10°C, puis ajouter 29,4 mmoles de dicyclohexylcarbodiimide.

5 Agiter pendant 4 heures à -10° C puis pendant 1 heure à 20°C.

La dicyclohexylurée formée est éliminée par filtration et la solution de N-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl]oxy succinimide est utilisée telle quelle dans l'étape suivante .

10 **Stade B : 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine**

15 La solution chlorométhylénique de N-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl]oxy succinimide obtenue au stade précédent est ajoutée à une solution préalablement préparée, et maintenue à 4° C, de 29,4 mmoles de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) pipérazine dans 40 cm³ de chlorure de méthylène.

Après 3 heures d'agitation à 4° C et 15 heures d'agitation à 20° C , le milieu est mis à sec sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : chloroforme/méthanol (99/1) puis chloroforme/méthanol (98/2)).

20 Après mise à sec des fractions collectées, on obtient la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine.

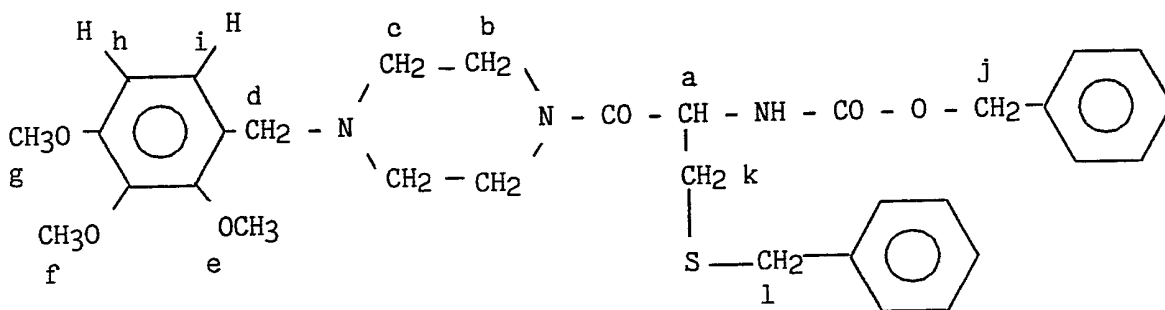
Pouvoir rotatoire (c = 1, éthanol absolu)

$$\left[\alpha \right]_D^{20} = -21,7^\circ$$

Caractéristiques spectrales :

25 Infrarouge (CHCl₃, 5 mg/ml, 0,1 mm) en cm⁻¹ : 3000, 2920, 1705, 1635, 1485, 1460, 1250, et 1090.

RMN ¹H (CDCl₃, référence interne : tétraméthylsilane)



	2,30 - 2,80 ppm	; triplet	; 4H	; c
	3,30 - 3,70 ppm	; triplet	; 4H	; b
	3,75 ppm	; singulet	; 2H	; d
5	3,89 ppm	; 2 singulets	; 9H	; e, f, g
	4,78 ppm	; multiplet	; 1H	; a
	5,12 ppm	; singulet	; 2H	; j
	5,32 ppm	; singulet	; 2H	; l
	5,70 ppm	; doublet	; 1H	; -NH-
10	6,65 et 6,95 ppm	; doublet	; 2H	; h, i (J = 10Hz)
	7,22 ppm	; multiplet	; 5H	; phényle
	7,33 ppm	; multiplet	; 5H	; phényle

Stade C : chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cysteinyl] pipérazine

15 La base obtenue au stade B est mise en suspension dans 200 cm³ d'eau. Après acidification avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à dissolution totale (PH 2-3), la solution obtenue est mise à sec par lyophilisation.

20 On obtient ainsi le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cysteinyl] pipérazine sous forme de cristaux blancs.

Pouvoir rotatoire (c = 1, éthanol absolu)

$$\left[\alpha \right]_{\text{D}}^{20} = -11,8^{\circ}$$

EXEMPLE 2 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-PROLYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade A la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par la N-benzyloxycarbonyl L-proline, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine.

Point de fusion (base) : 117° C

Pouvoir rotatoire (c : 1, éthanol absolu) (base) :

$$[\alpha]_D^{20} = -4,4^\circ$$

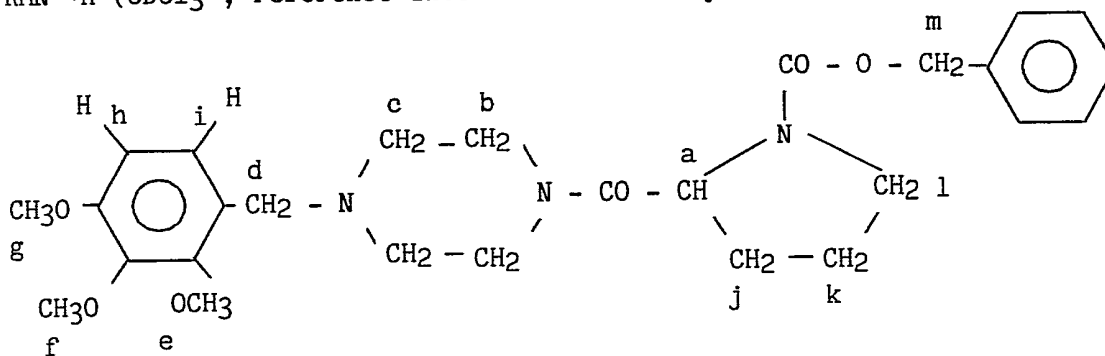
10 Pouvoir rotatoire (C : 1, eau) (chlorhydrate) :

$$[\alpha]_D^{20} = -8,9^\circ$$

Caractéristiques spectrales (base) :

Infrarouge (CHCl₃ ; 5 mg/ml ; 0,1 mm) en cm⁻¹ : 3000, 2930, 1690, 1645, 1490, 1465, 1415, 1090.

15 RMN ¹H (CDCl₃ ; référence interne : tétraméthylsilane)



	1,8 - 2,6 ppm	; multiplet	; 8H ; c, j, k
	3,3 - 3,8 ppm	; multiplet	; 8H ; b, d, l
	3,89 ppm	; 2 singulet	; 9H ; e, f, g
20	4,7 ppm	; multiplet	; 1H ; a
	5,12 ppm	; ;	; 2H ; m
	6,66 et 6,96 ppm	; doublet	; 2H ; h, i (J = 9Hz)
	7,35 ppm	; multiplet	; 5H ; phényle

EXEMPLE 3 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-PROLYL) PIPERAZINE

Une solution de 3 grammes de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine dans 100 cm³ de méthanol est hydrogénée pendant 1 heure sous une pression de 1 bar d'hydrogène, en présence de palladium sur charbon à 10 %.

Après élimination du catalyseur par filtration et mise à sec du milieu réactionnel, on obtient la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-prolyl) pipérazine sous forme d'huile avec un rendement quantitatif de 100 %.

Cette huile peut être reprise dans de l'eau pour donner après acidification avec de l'acide chlorhydrique 1N et isolement par lyophilisation le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-prolyl) pipérazine.

EXEMPLE 4 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL S-ETHYLTHIO L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par la S-éthylthio N-benzyloxycarbonyl L-cystéine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl S-éthylthio L-cystéinyl] pipérazine.

EXEMPLE 5 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[S-ETHYLTHIO L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl]pipérazine par la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl S-éthylthio L-cystéinyl] pipérazine, on obtient le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-éthylthio L-cystéinyl] pipérazine.

EXEMPLE 6 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-ALANYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl cystéine par la N-benzyloxycarbonyl L-alanine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-alanyl] pipérazine.

5 Pouvoir rotatoire (c = 1, éthanol absolu) (base) :

$$\left[\alpha \right]_D^{20} = -8,4^\circ$$

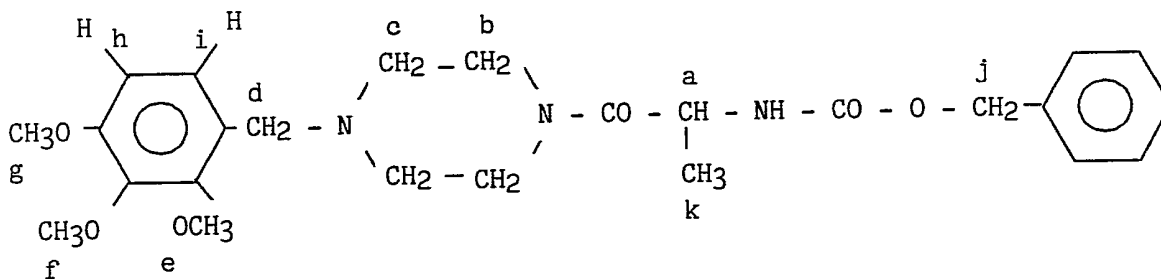
Pouvoir rotatoire (c = 1, eau) (chlorhydrate) :

$$\left[\alpha \right]_D^{20} = 1^\circ$$

Caractéristiques spectrales (base) :

10 Infrarouge (CHCl₃ ; 5 mg/ml ; 0,1 mm) en cm⁻¹ : 3060, 2990, 1710, 1640, 1490, 1465, 1445, 1095.

RMN ¹H (CDCl₃, référence interne : tétraméthylsilane)



	1,09 - 1,18 ppm	; doublet	; 3H ; k
15	2,46 ppm	; multiplet	; 4H ; c
	3,60 ppm	; multiplet	; 6H ; b, d
	3,91 ppm	; singulets	; 9H ; e, f, g
	4,63 ppm	; multiplet	; 1H ; a
	5,11 ppm	; singulet	; 2H ; j
20	5,85 ppm	; doublet	; 1H ; -NH-
	6,65 et 6,95 ppm	; doublet	; 2H ; h, i (J = 9 Hz)
	7,32 ppm	; multiplet	; 5H ; phényl

EXEMPLE 7 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-ALANYL) PIPÉRAZINE

25 En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine par la 1-

(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-alanyl] pipérazine, on obtient le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-alanyl) pipérazine.

EXEMPLE 8 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL D-ALANYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par la N-benzyloxycarbonyl D-alanine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl D-alanyl] pipérazine.

Pouvoir rotatoire (c = 1, éthanol absolu) :

$$[\alpha]_D^{20} \text{ base} = + 8,1^\circ$$

EXEMPLE 9 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(D-ALANYL) PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine par la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl D-alanyl] pipérazine, on obtient le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(D-alanyl) pipérazine.

EXEMPLE 10 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-PHENYLALANYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par la N-benzyloxycarbonyl L-phénylalanine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-phénylalananyl] pipérazine.

Pouvoir rotatoire (c = 1, éthanol absolu) :

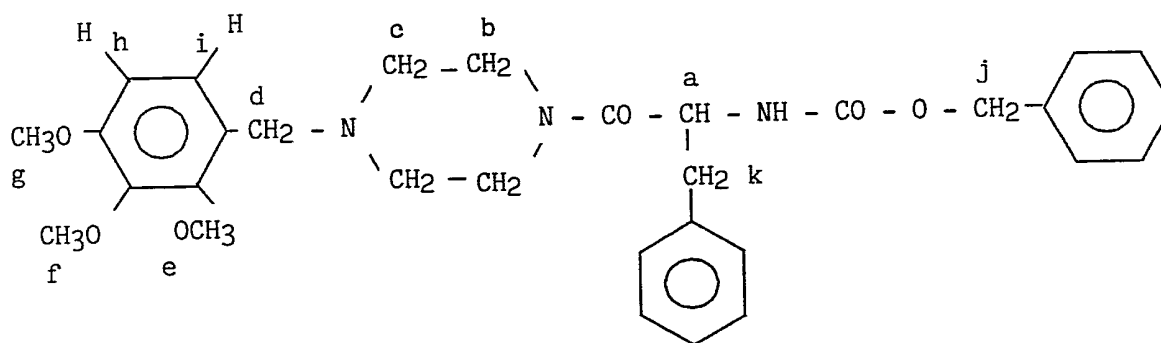
$$[\alpha]_D^{20} \text{ (base)} = + 3,0^\circ$$

$$[\alpha]_D^{20} \text{ (chlorhydrate)} = + 9,9^\circ$$

Caractéristiques spectrales (base) :

Infrarouge (CHCl₃ ; 5 mg/ml ; 0,1 mm) en cm⁻¹ : 2980, 2900, 1710, 1635,
5 1490, 1460, 1090.

RMN ¹H (CDCl₃, référence interne : tétraméthylsilane)



	2,2 - 2,5 ppm	; multiplet	; 4H ; c
	3,39 ppm	; singulet	; 2H ; d
10	3,40 - 3,60 ppm	; multiplet	; 4H ; b
	3,88 ppm	; 2 singulets	; 9H ; e, f, g
	4,89 ppm	; multiplet	; 1H ; a
	5,11 ppm	; singulet	; 2H ; j
	5,70 ppm ; doublet	; 1H	; -NH-
15	6,64 et 6,90 ppm	; doublet	; 2H ; h, i (J = 8Hz)
	7,12 - 7,34 ppm	; multiplet	; 10H ; phényl

EXEMPLE 11 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-PHENYLALANYL) PIPÉRAZINE

En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-
20 triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine par la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-phénylalanyl]

pipérazine, on obtient le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-phénylalanyl) pipérazine.

EXEMPLE 12 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL GLYCYL] PIPERAZINE

5 En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade A la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par la N-benzyloxycarbonyl glycine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl glycy] pipérazine.

EXEMPLE 13 : DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-GLYCYL PIPERAZINE

10

En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine par la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl glycy] pipérazine, on obtient le dichlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-glycy pipérazine.

15

EXEMPLES 14 A 40

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade A la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine par :

. la N-benzyloxycarbonyl L-valine, on obtient :

20

EXEMPLE 14 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-VALYL] PIPERAZINE

. l'acide N-benzyloxycarbonyl 4-aminobutyrique, on obtient :

EXEMPLE 15 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL 4-AMINOBUTYRYL] PIPERAZINE

25

. l'acide N-benzyloxycarbonyl γ -tert-butylester α -L-glutamique, on obtient :

EXEMPLE 16 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL γ -TERT-BUTYLESTER α -GLUTAMYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl O-tert-butyl L-tyrosine, on obtient :

EXEMPLE 17 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL O-TERT-BUTYL L-TYROSYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl O-tert-butyl L-thréonine, on obtient :

5 EXEMPLE 18 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL O-TERT-BUTYL L-THREONYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl O-tert-butyl L-sérine, on obtient :

EXEMPLE 19 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL O-TERT-BUTYL L-SERYL] PIPERAZINE

. la N_α-benzyloxycarbonyl N_ε-tert-butylloxycarbonyl L-lysine, on obtient :

10 EXEMPLE 20 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N_α-BENZYLOXYCARBONYL N_ε-TERT-BUTYLOXYCARBONYL L-LYSYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl O-benzyl D-tyrosine, on obtient :

15 EXEMPLE 21 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL O-BENZYL D-TYROSYL] PIPERAZINE

. la N_α-benzyloxycarbonyl L-histidine, on obtient :

20 EXEMPLE 22 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N_α-BENZYLOXYCARBONYL L-HISTIDYL] PIPERAZINE

. l'acide N-benzyloxycarbonyl β-tert-butylester α-L-aspartique, on obtient :

25 EXEMPLE 23 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL β-TERTBUTYLESTER α-L-ASPARYL] PIPERAZINE

. la N_α-benzyloxycarbonyl L-asparagine, on obtient :

EXEMPLE 24 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N_α-BENZYLOXYCARBONYL L-ASPARAGINYL] PIPERAZINE

. la N_α-benzyloxycarbonyl L-glutamine, on obtient :

EXEMPLE 25 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N α -BENZYLOXYCARBONYL L-GLUTAMINYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl γ -trans-hydroxy L-proline, on obtient :

EXEMPLE 26 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL γ -TRANS-HYDROXY L-PROLYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl L-isoleucine, on obtient :

EXEMPLE 27 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-ISOLEUCYL] PIPERAZINE

. la N α -benzyloxycarbonyl N ω -nitro L-arginine, on obtient :

EXEMPLE 28 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N α -BENZYLOXYCARBONYL N ω -NITRO L-ARGINYL] PIPERAZINE

. la N-benzyloxycarbonyl L-méthionine, on obtient :

EXEMPLE 29 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-METHIONYL] PIPERAZINE

. le N α -benzyloxycarbonyl L-tryptophane, on obtient :

EXEMPLE 30 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N α -BENZYLOXYCARBONYL L-TRYPTOPHYL] PIPERAZINE

. l'acide N-benzyloxycarbonyl perhydroindol-2-yl(2S,3aS,7aS) carboxylique, on obtient :

EXEMPLE 31 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[[N-BENZYLOXYCARBONYL PERHYDROINDOL-2-YL(2S,3aS,7aS)]CARBONYL] PIPERAZINE

. la N,0-di(benzyloxycarbonyl) L-tyrosine, on obtient :

EXEMPLE 32 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N,0-DI(BENZYLOXYCARBONYL) L-TYROSYL] PIPERAZINE

. par la N,S-di(benzyloxycarbonyl) L-cystéine, on obtient :

EXEMPLE 33 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N,S-di(BENZYLOXYCARBONYL) L-CYSTÉINYL] PIPERAZINE

. par la N-tert-butyloxycarbonyl S-benzyl L-cystéine, on obtient :

EXEMPLE 34 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-TERT-BUTYLOXYCARBONYL S-BENZYL L-CYSTÉINYL] PIPERAZINE

5 . par la N-pivaloyl S-benzyl L-cystéine, on obtient :

EXEMPLE 35 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-PIVALOYL S-BENZYL L-CYSTÉINYL] PIPERAZINE

. par la N-acétyl S-benzyl L-cystéine, on obtient :

10 EXEMPLE 36 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-ACÉTYL S-BENZYL L-CYSTÉINYL] PIPERAZINE

. par l'acide N-benzyloxycarbonyl L-pyroglutamique, on obtient :

EXEMPLE 37 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL 5-OXO L-PROLYL] PIPERAZINE

. par la N-palmitoyl S-benzyl L-cystéine, on obtient :

15 EXEMPLE 38 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-PALMITOYL S-BENZYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

. par la N-eicosanoyl S-benzyl L-cystéine, on obtient :

EXEMPLE 39 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N-EICOSANOYL S-BENZYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

20 . l'acétyl-DL-carnitine, on obtient :

EXEMPLE 40 : LE CHLORURE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[[3-(TRIMETHYLAMMONIUM) 2-(ACETOXY) PROP-1-YL]CARBONYL] PIPERAZINE

25 EXEMPLE 41 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-[S-BENZYL N-BENZYLOXYCARBONYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade B la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) pipérazine par la 1-(2,5-diméthoxybenzyl) pipérazine, on obtient le chlorhydrate de 1-(2,5-diméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine.

EXEMPLES 42 A 44

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade B la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) pipérazine par la 1-(2,5-diméthoxybenzyl) pipérazine, et en remplaçant au stade A la S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéine

. par la N-benzyloxycarbonyl L-proline, on obtient :

EXEMPLE 42 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-PROLYL] PIPERAZINE

. par la S-éthylthio N-benzyloxycarbonyl L-cystéine on obtient :

EXEMPLE 43 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-[S-ETHYLTHIO N-BENZYLOXYCARBONYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

. par la N-benzyloxycarbonyl L-alanine, on obtient :

EXEMPLE 44 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-[N-BENZYLOXYCARBONYL L-ALANYL] PIPERAZINE

EXEMPLE 45 : LE CHLORHYDRATE DE 1-(3-METHOXYBENZYL) 4-[S-(BENZYL) N-(BENZYLOXYCARBONYL) L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

En procédant comme dans l'exemple 1, mais en remplaçant au stade B la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) pipérazine par la 1-(3-méthoxybenzyl) pipérazine, on obtient le chlorhydrate de 1-(3-méthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine.

EXEMPLES 46 A 57

En procédant comme dans l'exemple 3, mais en remplaçant la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine par :

. la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-valyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 46 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-VALYL) PIPERAZINE

. la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl 4-aminobutyryl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 47 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(4-AMINOBTYRYL) PIPERAZINE

5 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl γ -tert-butylester α -L-glutamyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 48 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[γ -TERT-BUTYLESTER α -L-GLUTAMYL] PIPERAZINE

10 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl O-tert-butyl L-tyrosyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 49 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[O-TERT-BUTYL L-TYROSYL] PIPERAZINE

15 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl O-tert-butyl L-séryl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 50 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[O-TERT-BUTYL L-SERYL] PIPERAZINE

20 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N_α-benzyloxycarbonyl N_ε-tert-butylloxycarbonyl L-lysyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 51 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-[N_ε-TERT-BUTYLOXYCARBONYL L-LYSYL] PIPERAZINE

25 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N_α-benzyloxycarbonyl L-histidyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 52 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-HISTIDYL) PIPERAZINE

30 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-glutaminy] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 53 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-GLUTAMINYL) PIPERAZINE

30 . la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[[N-benzyloxycarbonyl perhydroindol-2-yl(2S,3aS,7aS)]carbonyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 54 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-
[(PERHYDROINDOL-2-YL(2S,3aS,7aS)CARBONYL] PIPERAZINE

. la 1-(2,5-diméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-
cystéinyl] pipérazine, on obtient :

5 EXEMPLE 55 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-[S-
BENZYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

. la 1-(2,5-diméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-alanyl]
pipérazine, on obtient :

10 EXEMPLE 56 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(2,5-DIMETHOXYBENZYL) 4-(L-
ALANYL) PIPERAZINE

. la 1-(3-méthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-
cystéinyl] pipérazine, on obtient :

EXEMPLE 57 : LE DICHLORHYDRATE DE 1-(3-METHOXYBENZYL) 4-[S-BENZYL
L-CYSTEINYL] PIPERAZINE

15 EXEMPLE 58 : CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4-TRIMETHOXYBENZYL) 4-(L-
LYSYL) PIPERAZINE

20 cm³ d'acide trifluoroacétique sont ajoutés à une solution de 0,9
grammes de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N_c-tert-butyloxycarbonyl L-lysyl]
pipérazine dans 20 cm³ de chlorure de méthylène.

20 On laisse sous agitation durant 20 mn à 20°C. Après évaporation du chlorure
de méthylène, et élimination l'acide trifluoroacétique on obtient la 1-
(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-lysyl) pipérazine sous forme d'huile.

25 Cette huile peut-être reprise dans de l'eau pour donner après
acidification avec de l'acide chlorhydrique 1N et isolement par
lyophilisation le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-(L-lysyl)
pipérazine.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE DES COMPOSES DE LA PRESENTE INVENTION

EXEMPLE A : Recherche de l'activité anti-hypoxique in vitro

Principe :

Les astrocytes en culture constituent un modèle de choix pour la recherche d'une activité cytoprotectrice face à une situation d'hypoxie.

5 En effet, la première réaction cellulaire visible à toute agression cérébrale est un gonflement astrocytaire, alors même que les neurones, les oligodendrocytes et les cellules endothéliales ont encore un profil morphologique normal.

10 En outre, il a été montré récemment que l'astrocyte avait un rôle majeur au niveau cérébral, notamment dans l'élaboration des acides aminés neurotransmetteurs et dans la préservation de l'équilibre ionique extracellulaire (Rothman, S.M. et al. Ann. Neurol. (1986) ; 19 : 105-111).

La demanderesse a donc testé l'effet des composés de l'invention sur la protection cellulaire d'astrocytes en culture placés en situation d'hypoxie, en :

- 15
- mesurant la consommation en oxygène de ces astrocytes, ce qui permet un suivi de l'activité respiratoire,
 - en analysant certains marqueurs enzymatiques, qui permettent de mesurer l'intégrité métabolique et membranaire de ces astrocytes

Méthodologie :

20 Les astrocytes de rats en culture primaire sont préparés à partir de cortex provenant de cerveaux de rats nouveau-nés.

Le traitement hypoxique consiste en une exposition des cellules, en atmosphère humide, à un mélange gazeux constitué de 95 % N₂ et 5 % CO₂, à 37°C pendant 15 heures.

25 Les composés à tester sont ajoutés au milieu de culture 12 heures avant l'hypoxie. Un second ajout est réalisé à la fin de la période hypoxique.

2 heures après la fin de l'hypoxie, on mesure la consommation cellulaire d'oxygène ainsi que l'activité enzymatique lactate déshydrogénase (LDH) intra-cellulaire et extra-cellulaire et le rapport des différentes isoenzymes de la LDH (isoenzyme Heart/isoenzyme Muscle ou H/M).

a) Consommation d'oxygène : On détermine la consommation d'oxygène des cellules en milieu salin isotonique par mesure polarimétrique dans un oxygraphe GILSON, muni d'une électrode de Clark à oxygène.

b) Activité LDH intra-cellulaire : Elle est déterminée par mesure spectrophotométrique à 340 nm sur un extrait cellulaire obtenu après désintégration des cellules aux ultrasons.

c) Activité LDH extra-cellulaire : Elle est déterminée par mesure spectrophotométrique à 340 nm sur le milieu de culture.

d) Rapport H/M : Les différentes formes isoenzymatiques intracellulaires de la LDH sont estimées par électrophorèse en gel de polyacrylamide à 7 % et identification spécifique des bandes isoenzymatiques.

Résultats :

Les composés de l'invention permettent une amélioration de l'activité respiratoire (consommation d'oxygène), après hypoxie des cellules, largement supérieure à celle obtenue après traitement avec de la trimétazidine.

En outre, l'analyse des différents marqueurs enzymatiques montre que les composés de l'invention présentent un effet protecteur remarquable de l'intégralité métabolique (activité LDH intra-cellulaire et rapport des isoenzymes : H/M) et de l'intégrité membranaire (activité LDH extra-cellulaire).

A titre d'exemple, la chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine provoque une amélioration de l'activité respiratoire de 34 % par rapport aux cellules non traitées.

5 Le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine augmente également de plus de 20 % la valeur du rapport H/M, une augmentation de la valeur du rapport étant le signe d'un bon fonctionnement métabolique, alors qu'on observe une baisse de 17 % de la valeur de ce rapport dans les cellules non traitées.

10 **Exemple B : Recherche d'une activité anti-ischémiant in vivo**

Principe :

Certaines gerbilles (40 à 60 % des cas), dites sensibles, présentent une anomalie du cercle de Willis (Levine et al. Exp. Neurol. 1966 ; 16 : 255 - 262).

15 Grâce à cette anomalie, l'occlusion d'une carotide chez la gerbille permet de reproduire, contrairement aux autres espèces animales, la pathologie de l'ischémie cérébrale humaine.

La demanderesse a donc présentement testé l'influence des composés de l'invention sur la survie des gerbilles ayant subi une ischémie
20 cérébrale par ligature de la carotide gauche.

Méthodologie :

On anesthésie les gerbilles "sensibles" au Kétalar® à la dose de 60 mg/kg par voie intrapéritonéale. 30 minutes avant la ligature de la carotide gauche, on administre, par la voie intrapéritonéale, différentes
25 concentrations des composés à tester en solution dans le polyéthylène glycol à 3 %.

On analyse le comportement des animaux à différents temps et les signes observés sont traduits en score selon l'indice de Mac Graw modifié (Mac Graw, CP et al. ; Stroke (1976) ; 7 : 485). L'étude statistique est faite selon le test U de Mann Whitney.

5 Résultats :

Les composés de l'invention présentent une activité protectrice anti-ischémiantre très importante et bien supérieure à celle de la trimétazidine.

10 A titre d'exemple, le pourcentage de survie des animaux après ligature de la carotide gauche dépasse les 70 %, au temps 96 h, sous l'action du chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pypérazine, alors que tous les animaux sont morts dans les expériences contrôle.

Exemple C : Recherche d'une activité anti-hypoxique in vivo

15 Principe :

les animaux (souris) sont placées dans une atmosphère pauvre en oxygène, ce qui provoque l'apparition de suffocations (ou "gasps").

Les composés possédant des propriétés anti-hypoxiques provoquent un retard dans l'apparition de ces suffocations.

20 La demanderesse a présentement testé les composés de l'invention dans ce test.

Méthodologie :

25 Les souris mâles (Swiss CD1) pesant 25 - 30 g sont stabulées durant 1 semaine avant toute expérience dans les conditions usuelles d'animalerie (20-22°C, 55 % d'humidité, cycle lumière/obscurité 12/12, nourriture industrielle et eau à volonté).

Les souris sont placées dans une boîte (7 × 5 × 5 cm) dans laquelle on crée une atmosphère pauvre en oxygène par le passage d'un courant d'air (96 % N₂, 4 % O₂, 12 l/mm).

5 Le délai d'apparition des premières suffocations ou ("gasps") est mesuré.

Les souris reçoivent une dose des composés à tester par voie intrapéritonéale 30 mn avant la réalisation de l'hypoxie.

La vincamine (14,15-dihydro 14-hydroxyeburnamine 14-carboxylate de méthyle) est utilisée comme drogue de référence.

10 Résultats :

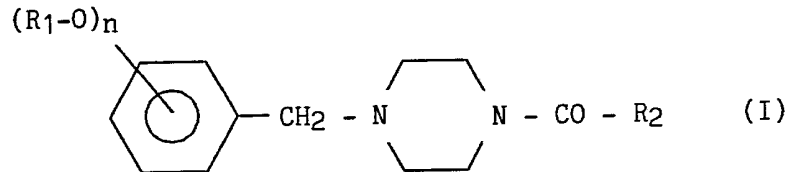
Les résultats sont présentés dans le tableau 1 pour le composé de l'invention qui est le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine.

TRAITEMENT	DOSE (mg/kg)	DELAI D'APPARITION DES PREMIERES SUFFOCATIONS OU "GASPS"
TEMOIN	-	30 ± 7
VINCAMINE	2,5	48 ± 8 (non significatif)
VINCAMINE	20	167 ± 12 (significatif)
CHLORHYDRATE DE 1-(2,3,4- TRIMETHOXYBENZYL) 4-[S-BENZYL N- BENZYLOXYCARBONYL L-CYSTEINYL] PIPERAZINE	2,5	70 ± 13 (significatif)

15 Le résultats montrent que le chlorhydrate de 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl cystéinyl] pipérazine est actif comme antihypoxique dès la dose de 2,5 mg/kg alors que le composé de référence, à la même dose, ne provoque aucune différence significative.

REVENDEICATIONS

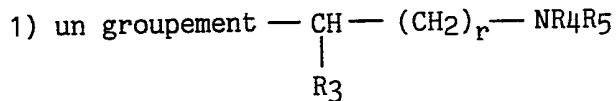
1. Composés de formule générale (I) :



dans laquelle :

- 5
- n nombre entier peut prendre les valeurs 1, 2, ou 3,
 - R₁ est un alkyle linéaire ou ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone,

- R₂ représente :



10 dans lequel :

- r nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2,

- R₃ représente :

- a) un atome d'hydrogène,
- b) un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone

15 éventuellement substitué par un groupement choisi parmi :

i) -OH, ou -COOH,

ii) -O-R₆, -CO-R₆, -CO-O-R₆, -O-CO-R₆, ou -O-CO-O-R₆ avec R₆ étant un groupement choisi parmi : alkyle linéaire ou ramifié saturé insaturé ou polyinsaturé de 1 à 12 atomes

de carbone, et $-(CH_2)_m$ -phényle éventuellement substitué où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

5 iii) $-NR_7R_8$ avec R_7 et R_8 , identiques ou différents, représentant chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène, un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, $-CO-R_6$ ou $-CO-O-R_6$ avec R_6 ayant la même signification que précédemment, et $-(CH_2)_m$ -phényle éventuellement substitué, où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

10 iv) $-CO-NR_9R_{10}$ avec R_9 et R_{10} , identiques ou différents, ayant la même définition que R_6 avec R_6 tel que défini précédemment ou pouvant également représenter un atome d'hydrogène, ou former ensemble avec l'atome d'azote qui les porte un système cyclique de 5 à 7 sommets pouvant
15 comprendre éventuellement un second hétéroatome choisi parmi oxygène, azote, soufre,

v) $-SH$, ou $-SeH$,

vi) un groupement $-S-R_6$, $-Se-R_6$, $-S-CO-O-R_6$, $-S-S-R_6$ ou $-Se-Se-R_6$ avec R_6 tel que défini précédemment,

20 vii) guanidino,

viii) nitro-3 guanidino,

ix) un groupement indole ou imidazole éventuellement substitué,

25 - c) un groupement $-(CH_2)_m$ -phényle éventuellement substitué où m nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

étant entendu que R_3 ne peut pas représenter un groupement isobutyle,

- R_4 représente un atome d'hydrogène, un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, un groupement $-(CH_2)_p$ -phényle

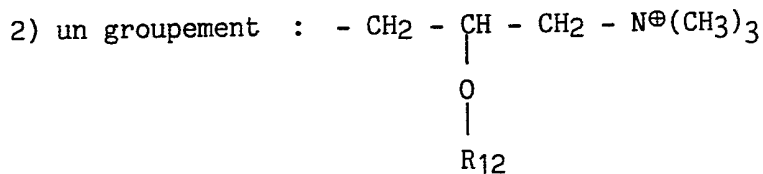
éventuellement substitué où p nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3, ou forme avec R₃ et les atomes auxquels ils sont liés un système mono ou bicyclique choisi parmi : pyrrolidine, pipéridine, perhydroindole, indoline, 2-aza bicyclo[2, 2, 2]octane, et 2-aza bicyclo[3, 3, 0]octane, ces systèmes cycliques pouvant être éventuellement substitués par un ou plusieurs groupements choisis parmi :

hydroxy, oxo, alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, alcoxy linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone,

avec la réserve que si n = 1 alors R₃ et R₄ ne peuvent pas former ensemble, avec les atomes auxquels ils sont liés, une pyrrolidine substitué par un groupement oxo en a de l'azote,

- R₅ représente :

- un atome d'hydrogène,
- un groupement -(CH₂)_q-phényle éventuellement substitué où q nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,
- une chaîne alkyle de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée, insaturée ou polyinsaturée, éventuellement interrompue par un ou plusieurs atomes d'oxygène, de soufre, ou d'azote, et éventuellement substituée par un ou plusieurs hydroxy, amino, alkylamino ou alcoxy contenant de 1 à 6 atomes de carbone,
- un groupement -CO-R₁₁ ou -CO-O-R₁₁ où R₁₁ représente :
 - . une chaîne alkyle de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée, insaturée ou polyinsaturée, éventuellement interrompue par un ou plusieurs atomes d'oxygène, de soufre, ou d'azote, et éventuellement substituée par un ou plusieurs hydroxy, amino, alkylamino ou alcoxy contenant de 1 à 6 atomes de carbone,
 - . un groupement -(CH₂)_q-phényle éventuellement substitué où q nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,



dans lequel :

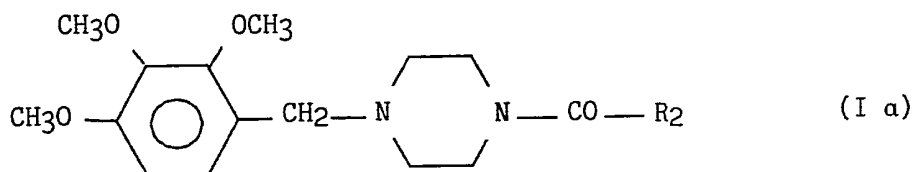
- R₁₂ représente :

- . un atome d'hydrogène,
- 5 . un groupement -CO-R₆, ou -CO-O-R₆ avec R₆ ayant la même signification que précédemment,

le terme substitué associé aux expressions "-(CH₂)_m-phényle", "-(CH₂)_p-phényle", "-(CH₂)_q-phényle", "imidazole", et "indole" signifie que ces radicaux peuvent être substitués sur le cycle par un ou plusieurs
10 groupements choisis parmi : hydroxy, halogène, nitro, trifluorométhyle, alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, alcoxy linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, -(CH₂)_t-phényle, et -O-(CH₂)_t-phényle où t nombre entier peut prendre les valeurs 0, 1, 2, 3,

leurs isomères, diastéréoisomères, épimères, isolés ou sous forme de
15 mélange ainsi que, le cas échéant, leurs sels d'addition d'un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

2. Composés de formule (I) selon la revendication 1 pour lesquels n est égal à 3 et R₁ représente un méthyle, les trois groupements méthoxy ainsi définis étant portés en positions 2, 3, et 4 par le noyau aromatique de la
20 benzylpiperazine, ce qui correspond aux composés de formule générale (I a)



dans laquelle R₂ est tel que défini dans la revendication 1 :

- leurs isomères, diastéréoisomères, épimères isolés ou sous forme de mélange,

- leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

3. Composés de formule (I) selon la revendication 1 pour lesquels R₂ représente un groupement
$$- \underset{\text{R}_3}{\text{CH}} - (\text{CH}_2)_r - \text{NR}_4\text{R}_5$$
 tel que défini dans la

5 revendication 1, dans lequel R₃ représente spécifiquement un alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone substitué par un groupement -SH ou -S-R₆ avec R₆ tel que défini dans la revendication 1,

- leurs isomères, diastéréoisomères, épimères, isolés ou sous forme de mélange
- leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

4. Composés de formule (I) selon la revendication 1 pour lesquels

- n est égal à 3,

15 - R₁ est un groupement méthyl, les trois groupements méthoxy ainsi définis étant portés en position 2, 3 et 4 par le noyau aromatique de la benzylpipérazine,

- R₂ est un groupement
$$- \underset{\text{R}_3}{\text{CH}} - (\text{CH}_2)_r - \text{NR}_4\text{R}_5$$
 tel que défini dans la

20 revendication 1 pour lequel R₃ représente un alkyl linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone substitué par un groupement -SH ou -S-R₆ avec R₆ tel que défini dans la revendication 1,

- leurs isomères, diostéréoisomères, épimères isolés ou sous forme de mélange,
- leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

5. Composés de formule (I) selon la revendication 1 pour lesquels R₂ représente un groupement
$$- \underset{\text{R}_3}{\text{CH}} - (\text{CH}_2)_r - \text{NR}_4\text{R}_5$$
 tel que défini dans la

30 revendication 1, dans lequel R₃ et R₄ forment ensemble, avec les atomes auxquels ils sont liés un système mono ou bicyclique choisi parmi :

pyrrolidine, pipéridine, perhydroindole, indoline, 2-aza bicyclo[2, 2, 2] octane, et 2-aza bicyclo[3, 3, 0] octane, ces systèmes cycliques pouvant être éventuellement substitués par un ou plusieurs groupements choisis parmi :

5 hydroxy, oxo, alkyle linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone, alcoxy linéaire ou ramifié de 1 à 6 atomes de carbone,

avec la réserve que si n, tel que défini dans la revendication 1, est égal à 1 alors R₃ et R₄ ne peuvent pas former ensemble, avec les atomes auxquels ils sont liés, une pyrrolidine substitué par un
10 groupement oxo en α de l'azote,

- leurs isomères, diastéréoisomères, épimères, isolés ou sous forme de mélange,
- leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

15 6. Le composé selon la revendication 1 qui est la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[S-benzyl N-benzyloxycarbonyl L-cystéinyl] pipérazine, ainsi que son isomère, isolés ou sous forme de mélange, et leurs sels d'addition à un acide pharmaceutiquement acceptable.

20 7. Le composé selon la revendication 1 qui est la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-alanyl] pipérazine, ainsi que son isomère, isolés ou sous forme de mélange, et leurs sels d'addition à un acide pharmaceutiquement acceptable.

25 8. Le composé selon la revendication 1 qui est la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-glycyl pipérazine, ainsi que ses sels d'addition à un acide pharmaceutiquement acceptable.

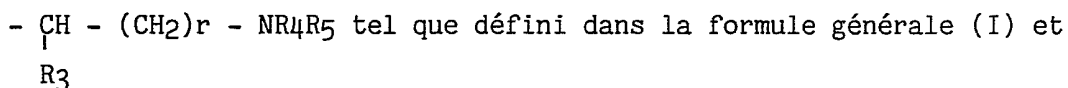
9. Le composé selon la revendication 1 qui est la 1-(2,3,4-triméthoxybenzyl) 4-[N-benzyloxycarbonyl L-prolyl] pipérazine, ainsi que son isomère, isolés ou sous forme de mélange, et leurs sels d'addition à un acide pharmaceutiquement acceptable.

30 10. Procédé de préparation des composés de formule (I), caractérisé en ce que l'on condense, en utilisant les techniques de couplage classiques

passant par la formation d'un ester activé (hydroxy succinimide, hydroxybenzotriazole... en présence de dicyclohexyl carbodiimide), un composé de formule (II) :

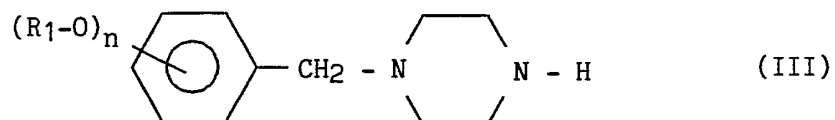


5 dans laquelle R'_2 a la même signification que R_2 dans la formule générale (I) avec la réserve que lorsque R'_2 représente un groupement

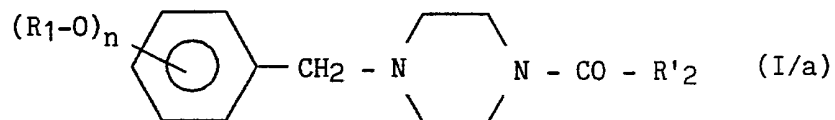


10 que R_4 représente un atome d'hydrogène, alors R_5 représente un groupement $-\text{CO}-\text{R}_{11}$ ou $-\text{CO}-\text{O}-\text{R}_{11}$ avec R_{11} ayant la même signification que dans la formule générale (I),

avec une (alcoxybenzyl) pipérazine de formule (III) :



15 dans laquelle R_1 et n sont tels que définis dans la formule (I) afin d'obtenir un composé de formule (I/a) :



dans laquelle R_1 , R'_2 et n sont tels que définis précédemment,

20 composés de formule (I/a) qui sont, dans le cas où R_5 représente un groupement $-\text{CO}-\text{O}-\text{R}_{11}$, éventuellement soumis si on le désire, aux réactions de déprotection des fonctions aminées en synthèse peptidique (traitement acide ou hydrogénation catalytique suivant la nature de R_{11}) afin d'accéder aux composés de formule (I) pour lesquels R_5 représente un hydrogène,

les composés de formule (I) peuvent, si nécessaire être purifiés, par une technique classique comme la cristallisation et/ou la chromatographie sur colonne de silice,

5 ils peuvent également être salifiés, soit avec un acide pharmaceutiquement acceptable, soit, si cela est possible et si on le désire avec une base pharmaceutiquement acceptable.

10 11. Composition pharmaceutique contenant comme principe actif au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 9 en combinaison avec un ou plusieurs excipients ou véhicules inertes, non toxiques, et pharmaceutiquement acceptables.

15 12. Composition pharmaceutique selon la revendication 11, utilisable pour le traitement et la prévention de l'ischémie cérébrale, de l'hypoxie vasculaire cérébrale, de l'anoxie vasculaire cérébrale et des oedèmes cérébraux, pour le traitement des accidents vasculaires cérébraux d'origines diverses, des traumatismes crâniens, des encéphalopathies, des
20 maladie neuro-dégénératives et des troubles de la sénescence, ainsi que pour le traitement et la prévention de l'ischémie de type périphérique, notamment en cardiologie l'ischémie myocardique et l'ischémie coronarienne et leurs différentes expressions cliniques :
angine de poitrine, infarctus du myocarde, troubles du rythme, spasme vasculaire, insuffisance cardiaque, ainsi qu'en ophtamologie et en oto-rhino-laryngologie lors d'atteintes vasculaires chorio-rétiniennes, de vertiges d'origine vasculaire, de vertiges de Menière ou d'acouphènes.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

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

N° d'enregistrement
national

FR 9110431
FA 461172

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	FR-A-2 503 709 (NIPPON CHEMIPHAR CO.) * page 12, ligne 17 - ligne 27 * * page 14, ligne 12 - page 15, ligne 35 * ---	1-3, 10
D, A	GB-A-2 185 483 (NIPPON SHINYAKU COMP. LTD.) * exemples * -----	1
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C07D
Date d'achèvement de la recherche 22 AVRIL 1992		Examineur PAUWELS G. R. A.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)