

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 08136

(54) Dérivés de la nonaprénylamine, leurs sels acides d'addition et composition pharmaceutique les renfermant.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 C 87/28; A 61 K 31/135; C 07 C 87/48.

(22) Date de dépôt..... 23 avril 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : Japon, 23 avril 1980, n° 55107/1980.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 51 du 18-12-1981.

(71) Déposant : Société dite : NISSHIN FLOUR MILLING CO., LTD., résidant au Japon.

(72) Invention de : Y. Tahara, H. Koyama, Y. Komatsu, R. Kubota et T. Takahashi.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Bureau D. A. Casalonga et office Josse et Petit,
8, av. Percier, 75008 Paris.

Dérivés de la nonaprénylamine, leurs sels acides d'addition et composition pharmaceutique les renfermant.

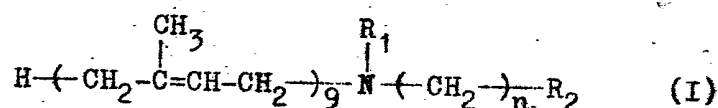
La présente invention concerne de nouvelles nonaprényl-
5 amines et leurs sels acides d'addition qui sont utilisés
contre les infections virales des animaux vertébrés.

On connaît jusqu'ici diverses substances auxquelles on a
attribué un effet préventif ou calmant sur les maladies dues à
des virus dont l'hôte est un animal vertébré, ou qui ont été
10 reconnues capables d'adoucir les symptômes de ces maladies en
augmentant d'une façon significative l'activité anticorps chez
l'animal. Les produits antiviraux mentionnés jusqu'ici compren-
nent l'interféron, les substances capables d'induire l'inter-
féron, c'est-à-dire les inducteurs (inducteurs d'interféron),
15 le chlorhydrate d'amantadine ou des substances synthétiques,
telles que la méthysazone, qui exercent directement un effet
inhibiteur sur la propagation des virus. L'interféron est une
glycoprotéine ayant une activité antivirale et antitumeur,
ladite glycoprotéine étant produite in situ par les cellules
20 d'un animal vertébré quand ces cellules sont infectées avec un
virus et elle est efficace pour la thérapie d'un grand nombre
de maladies virales infectieuses. Des inducteurs connus qui
induisent l'interféron chez les animaux vertébrés par un
processus autre que l'infection virale, comprennent des subs-
25 tances naturelles à haut poids moléculaire telles que l'acide
ribonucléique à chaîne double de bactériophages d'une certaine
espèce, ou des substances synthétiques à haut poids molécu-
laire telles que l'acide ribonucléique à chaîne double dont le
type est l'acide polyinosinique-acide polycytidylique, ou des
30 inducteurs à bas poids moléculaire tels que le produit connu
sous la désignation "tilorone" correspondant au dichlorhydrate de
2,7-bis[2(diéthylamino)-éthoxy]fluorène-9-one.

Toutefois, dans la production de l'interféron, le pro-
blème de la purification de celui-ci est soulevé et en fait
35 aucun procédé économique pour la production de l'interféron
n'a été réalisé jusqu'ici. Par ailleurs, les inducteurs clas-
siques d'interféron n'ont pas reçu d'application pratique
surtout à cause de leur toxicité. Les agents antiviraux syn-
thétiques qui exercent directement un effet inhibiteur sur la

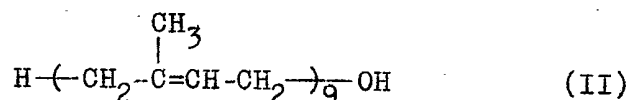
propagation du virus, qui sont disponibles dans le commerce actuellement, ont une gamme plutôt étroite des maladies infectées par les virus qui sont guérissables par administration dudit agent et par conséquent la mise au point d'agents antiviraux synthétiques nouveaux est vivement souhaitée. En tenant compte de ces considérations, les auteurs de la présente invention ont conduit des études poussées pour trouver des composés capables de produire l'interféron de grande activité et de plus, ayant une activité antivirale sur le niveau biologique, et il en est résulté que les inventeurs ont découvert que les composés représentés par la formule générale (I) suivante et leurs sels acides d'addition montrent un excellent pouvoir inducteur pour l'interféron et en même temps font preuve d'une excellente activité antivirale et antitumorale même dans l'essai biologique et on considère qu'ils conviennent pour être utilisés à titre de médicament.

Ainsi, la présente invention a pour but de fournir une nouvelle classe de dérivés de la nonaprénylamine représentés par la formule générale suivante :



dans laquelle n désigne un nombre entier de 0 à 2, R_1 désigne un atome d'hydrogène, un groupe alkyle inférieur ou un groupe nonaprényle et R_2 désigne un groupe phényle.

Pour la préparation de la nonaprénylamine représentée par la formule générale (I) mentionnée ci-dessus, et de ses sels acides d'addition, on peut adopter un procédé dans lequel les processus connus de la synthèse des amines sont appliqués au nonaprénol de départ représenté par la formule :

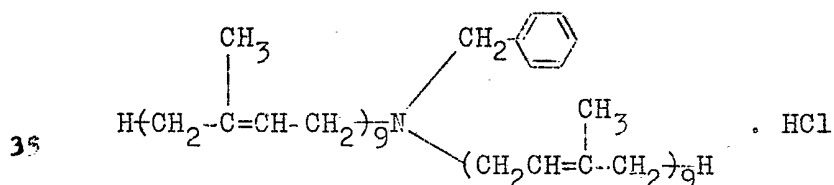


pour obtenir un dérivé aminé désiré.

- En outre, le dérivé aminé ainsi obtenu peut être transformé en un sel correspondant de façon classique. Plus spécifiquement, une amine désirée peut être préparée selon un
- 5 procédé qui comprend la transformation d'un alcool nonaprénylique approprié ayant la formule générale (II) ci-dessus en un halogénure correspondant (par exemple bromure de nonaprényle) ou un ester d'acide arylsulfonique correspondant (par exemple tosylate de nonaprényle) suivi de la réaction avec un
- 10 composé aminé primaire ou secondaire approprié correspondant au produit final désiré, en présence ou en l'absence d'une base. De façon alternative, l'amine désirée peut être préparée par oxydation d'un nonaprénol en aldéhyde correspondant au moyen d'un agent d'oxydation approprié (par exemple le dioxyde
- 15 de manganèse actif) qui est ensuite condensé avec un composé aminé primaire approprié, avec départ d'eau, pour former un composé imino correspondant qui à son tour est réduit avec un agent réducteur approprié (par exemple borohydrure de sodium). Un sel acide d'addition du dérivé aminé ainsi obtenu peut être
- 20 préparé en mélangeant ladite amine dans un solvant approprié avec un acide désiré pour former un sel et en faisant cristalliser le sel de la solution par évaporation, ou autre moyen, pour le récupérer. Les sels acides d'addition appropriés pour être utilisés comme médicaments comprennent par
- 25 exemple ceux obtenus avec l'acide chlorhydrique, l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide fumarique et analogues.

Les composés représentés par la formule générale (I) et leurs sels acides d'addition sont illustrés ci-dessous en se référant aux exemples préparatifs ci-après.

- 30 Exemple de préparation 1
Chlorhydrate de N-benzyl-disolanesylamine



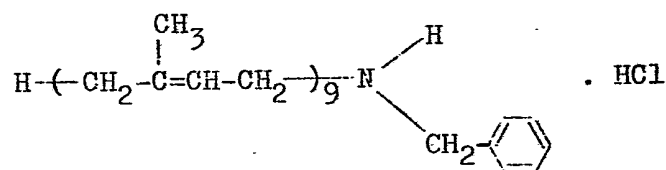
A une solution d'éthanol (100 ml) de benzylamine (14 g) on ajoute une solution de bromure de solanesyl (30 g) dans l'isopropyléther (70 ml), goutte à goutte à la température ambiante, en l'espace d'une heure, tout en agitant, l'agitation étant continuée encore pour 3 heures. On ajoute au mélange réactionnel résultant 100 ml de NaOH 2N et on l'extrait avec de l'isopropyléther. On lave l'extrait successivement avec de l'eau et avec une solution saline saturée, on sèche sur du sulfate de sodium anhydre et on concentre sous pression réduite. On purifie le résidu (25,4 g) par chromatographie sur colonne en utilisant du gel de silice (260 g). On élue avec un mélange de benzène-acétone. La fraction éluee initialement (11,6 g) est dissoute dans l'acétate d'éthyle, on y ajoute de l'éther contenant HCl jusqu'à acidification faible et on refroidit. On sépare la masse cristallisée par filtration et on récupère 6,3 g de chlorhydrate de N-benzylsolanésylamine, point de fusion (P.F.) 53-55°C. L'analyse élémentaire de $C_{97}H_{153}N.HCl$ donne les résultats suivants :

	C%	H%	N%
20 Calculé	85,06	11,53	1,02
Trouvé	85,01	11,51	0,99

Exemple de préparation 2

Chlorhydrate de N-benzylsolanésylamine

25



30

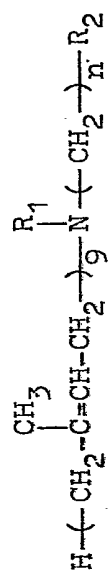
On dissout dans l'acétone la fraction éluee en dernier (11,6 g) obtenue dans l'exemple 1 et on ajoute ensuite de l'éther contenant HCl. On traite le mélange comme dans l'exemple 1 pour obtenir 8,4 g de chlorhydrate de N-benzylsolanésylamine, P.F. 109-110°C. L'analyse élémentaire de $C_{52}H_{81}N.HCl$ donne les résultats suivants :







	C%	H%	N%
Calculé	82,54	10,92	1,85
Trouvé	82,75	10,85	1,89

Exemples de préparation 3 à 7

- 5 On met en oeuvre le même procédé que dans l'exemple 1
pour réaliser la réaction du bromure de solanesyle avec une
amine primaire ou secondaire obtenant les composés ci-après
indiqués, dont la formule de structure, la formule moléculaire,
le point de fusion (P.F.) et l'analyse élémentaire
10 figurent sur le tableau 1.

TABLEAU 1



Ex. de prépara- tion No	Structure		Formule moléculaire	P.F. (°C)	Analyse élémentaire						
	R ₁	R ₂			Calculé (%)			Trouvé (%)			
			n		C	H	N	C	H	N	
3	H		0	C ₅₁ H ₇₉ N·HCl	75-78	82.48	10.86	1.89	82.81	11.02	1.87
4	H		2	C ₅₃ H ₈₃ N·HCl	107-109	82.60	11.00	1.82	82.70	10.90	2.01
5	CH ₃		0	C ₅₂ H ₈₁ N	35-36	86.72	11.34	1.95	86.84	11.35	1.39
6	CH ₃		1	C ₅₃ H ₈₃ N·HCl	89-92	82.60	10.99	1.82	82.20	10.95	1.74
7	 H(CH ₂ -C=CH-CH ₂) ₉		2	C ₉₈ H ₁₅₅ N·HCl	52-54	85.06	11.36	1.01	84.74	11.29	0.96

Les effets physiologiques des composés de la présente invention sont illustrés ci-dessous en détail.

(1) Essai de l'activité induisant l'interféron.

- Chaque composé d'essai mis en suspension dans l'eau avec
- 5 un tensio-actif est administré par voie intrapéritonéale à chaque groupe constitué par 5 souris femelles ICR pesant environ 25 g. 20 heures après l'administration, on recueille le sang des souris et le sérum en est séparé pour obtenir un interféron sérique. Les stades suivants sont réalisés afin de
- 10 déterminer l'activité de l'interféron sérique ainsi induit. Des cellules L-929 provenant de souris et incubées au préalable en une monocouche sont amenées en contact avec la solution de sérum d'essai diluée 10 fois, mis en incubation toute une nuit à 37°C dans un incubateur placé dans une at-
- 15 mosphère de gaz carbonique, et la solution de sérum d'essai diluée en est retirée. Ensuite, les cellules sont inoculées avec un virus de stomatitis vésiculaire et placées sur un milieu de culture tissulaire contenant 1% d'agar. Après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, les cellules sont
- 20 colorées avec une solution de rouge neutre, diluées à une concentration appropriée pour compter le nombre de plaques qui y est formé et ainsi pour calculer le taux d'inhibition des plaques dans chacun des groupes d'essai par rapport à un groupe auquel aucun composé d'essai n'a été administré. Le
- 25 taux d'inhibition des plaques de chaque composé d'essai est montré sur le tableau 2.

(2) Effet sur des souris infectées avec le virus vaccinal.

- Des groupes constitués chacun par 10 souris femelles ICR d'un poids de 15g environ reçoivent une injection intravei-
- 30 neuse de virus vaccinal (souche DIE) dans la veine de la queue à une distance de 2 cm de la racine de la queue. Le huitième jour après l'inoculation, le nombre de lésions en forme de pustules sur la surface de la queue est compté après avoir coloré la queue avec une solution d'éthanol contenant 1% de
- 35 fluorescéine et 0,5% de bleu de méthylène. Dans cet essai, chaque composé d'essai est administré par voie intrapéritonéale aux souris le jour précédent l'inoculation du virus,

ce qui fait que l'activité antiviral du composé d'essai est évaluée en terme d'inhibition des lésions de la queue telles que calculées dans chaque groupe d'essai par rapport à un groupe auquel on n'a pas administré de composé d'essai.

- 5 Le taux d'inhibition des lésions de la queue de chaque composé d'essai est indiqué sur le tableau 2.

(3) Effet sur des souris infectées avec le virus de la grippe.

- 10 Des groupes constitués chacun par 10 souris femelles ICR pesant environ 25 g, sont infectés par inhalation de virus de la grippe nébulisé A/PR-8. Une solution de chaque composé d'essai en solution aqueuse contenant un tensio-actif est administrée par voie intrapéritonéale aux souris 24 heures et 3 heures avant l'infection du virus et 5 fois par jour à
- 15 partir du second jour qui suit l'infection. Les souris qui survivent 21 jours après l'infection sont considérées comme des survivantes et le taux de survie est obtenu selon l'équation suivante :

$$\frac{\text{Nombre de survivantes}}{\text{Nombre de souris traitées}} \times 100 = \text{taux de survie.}$$

TABLEAU 2

Composé d'essai	Dose (intrapé- ritonéale) mg/kg	Défense préventive contre l'infection due au virus vacci- nal (Inhibition de la lésion de la queue)%	Interféron sérique (Inhibition néale) des plaques) mg/kg	Dose (intra- périto- néale) mg/kg	Défense préven- tive contre la grippe inoculée par injection (taux de survie) %
N-methyl-N-phenylsolanesylamine	50	26.8	24.1	30	20
Chlorhydrate de N-benzylsolanesylamine	50	74.7	31.5	30	80
Chlorhydrate de N-methyl-N-benzyl- solanesylamine	50	17.5	44.5	30	20
Chlorhydrate de N-phenethylsolanesylamine	50	30.8	19.1	30	60
Chlorhydrate d'Amantadine (temoin)	50	-	-	30	30

(4) Toxicité.

Afin de rechercher la toxicité aigüe des composés de la présente invention, la dose létale 50% de chaque composé est obtenue en utilisant des souris mâles ddY pesant 20 à 25 g.

- 5 D'après les résultats montrés sur le tableau 3, on voit que les composés ont une marge de sécurité élevée par administration par voie intrapéritonéale.

Composé d'essai	Administrée par voie intravei- neuse	Administrée par voie intrapéri- tonéale
-----------------	--	---

10

N-méthyl-N-phényl-		
solanesyamine	> 500	> 500
Chlorhydrate de N-ben-		
15 zylsolanesyamine	152	
Chlorhydrate de N-méthyl-		
N-benzylsolanesyamine	550	> 500
Chlorhydrate de N-phéné-		
thylsolanesyamine	250	> 500

- 20 Comme on peut le voir d'après les résultats d'essais précédents, les ingrédients actifs de la présente invention ont une activité inductrice sur l'interféron in vivo et ont une faible toxicité en manifestant une excellente activité antivirale. A la lumière du fait qu'une stricte corrélation de
- 25 l'activité interféron avec les activités antivirales individuelles n'est pas toujours observée pour les ingrédients de la présente invention, on considère également une éventualité que les activités antivirales desdits ingrédients au niveau biologique sont concernées non seulement dans l'interféron, mais
- 30 également dans d'autres mécanismes de défense de l'hôte. On connaît différentes maladies chez l'homme causées par des virus telles que les maladies infectées dites herpès (par exemple herpès simplex), grippe, rougeole et maladies similaires.

- 35 Par conséquent, quand les ingrédients actifs de la présente invention sont utilisés pour le traitement de maladies infectées par les virus, ils sont administrés aux malades par

des procédés impliquant l'administration orale, l'inhalation, ou analogue, ainsi que par injection sous-cutanée, intramusculaire et intraveineuse. Selon l'état du malade, tel que l'âge, les symptômes et la voie par laquelle l'ingrédient est
5 administré, l'ingrédient actif de la présente invention est utilisé en une dose de 0,5 à 20 mg/kg, de préférence de 3 à 5 mg/kg plusieurs fois par jour (2 à 4 fois).

Les ingrédients actifs de la présente invention peuvent être formulés dans des compositions pour médicaments, par
10 exemple comprimés, cachets, granulés, poudres, préparation liquide pour usage oral, lotions oculaires, suppositoires, pommades, injections et analogues.

Quand les ingrédients actifs de la présente invention sont administrés par voie orale, ils peuvent être formulés en
15 comprimés, cachets, granulés, ou poudres. Ces préparations solides pour usage oral peuvent contenir des excipients utilisés classiquement, par exemple l'anhydride silicique, l'acide métasilicique, l'alginate de magnésium, le silicate d'aluminium synthétique, le lactose, le sucre de canne, l'ami-
20 don de maïs, la cellulose microcristallisée, l'amidon hydroxypropylé ou la glycine, et analogues; des liants, par exemple la gomme arabique, la gélatine, la gomme adragante, l'hydroxypropylcellulose, ou la polyvinylpyrrolidone; des lubrifiants, par exemple le stéarate de magnésium, le talc ou la silice;
25 des agents de désagrégation, par exemple l'amidon de pomme de terre, et la carboxyméthylcellulose; ou des agents mouillants, par exemple polyéthylèneglycol, mono-oléate de sorbitan, huile de ricin durci par polyoxyéthylénation, laurylsulfate de sodium. Dans la préparation de cachets mous, en particulier,
30 les ingrédients actifs de la présente invention, peuvent être formulés en les dissolvant ou en les mettant en suspension dans du polyéthylène glycol ou dans des supports huileux communément utilisés tels que l'huile de sésame, l'huile d'arachide, l'huile de germe, l'huile de coprah fractionnée
35 telle que le produit vendu sous la marque "Miglyol" ou produits analogues. Les préparations en comprimés ou en granulés peuvent être enrobées selon les procédés classiques.

La préparation liquide pour usage oral peut être sous la forme d'émulsion aqueuse ou huileuse ou de sirop, ou par ailleurs sous la forme de produit sec qui peut être redissous avant usage à l'aide d'un véhicule approprié. A ces préparations liquides, on peut ajouter des produits additifs communément utilisés, par exemple des auxiliaires émulsifiants tels que sirop de sorbitol, méthylcellulose, gélatine, hydroxyéthylcellulose, et analogues; ou des émulsifiants, par exemple 5 lécithine, mono-oléate de sorbitan, huile de ricin durci par oxyéthylénation, excipients non aqueux, par exemple huile de 10 coprah fractionnée, huile d'amande, huile d'arachides et analogues; ou des antiseptiques, par exemple parahydroxybenzoate de méthyle, parahydroxybenzoate de propyle ou acide sorbique. En outre, ces préparations pour usage oral peuvent 15 contenir, si nécessaire, des agents de conservation, des stabilisants et les additifs analogues.

Dans le cas où les ingrédients actifs de la présente invention sont administrés sous forme de suppositoires, ils peuvent être formulés selon les procédés classiques utilisant 20 des substrats oléophiles tels que huile de cacao ou le produit connu sous la marque "Witepsol", ou ils peuvent être utilisés sous la forme de capsules rectales obtenues en enrobant un mélange de polyéthylèneglycol, d'huile de sésame, d'huile de germe, d'huile de coprah fractionnée et analogues dans une 25 feuille de gélatine. La capsule rectale peut être revêtue si nécessaire de matières cireuses.

Quand les ingrédients actifs de la présente invention sont utilisés sous la forme d'injection, ils peuvent être formulés en préparations de solution huileuse, solution émulsifiée ou solution aqueuse, et ces solutions peuvent contenir 30 des émulsifiants, stabilisants ou additifs analogues communément utilisés.

Selon le procédé d'administration, les compositions mentionnées ci-dessus peuvent contenir les ingrédients actifs 35 de la présente invention à raison d'au moins 1% et de préférence de 5 à 50%.

Le procédé pour formuler les ingrédients actifs de la présente invention en diverses préparations est illustré ci-dessous en se référant à des exemples pharmaceutiques.

Exemple pharmaceutique 1 - Préparation de cachets durs pour usage oral.

- 5 Un mélange de 25 g de chlorhydrate de N-benzylsolanesylamine et de 7,5 g d'huile de ricin polyoxyéthylée dans l'acétone est mélangé avec 25 g d'anhydride silicique. Après évaporation de l'acétone, le mélange est malaxé encore avec 5 g de calcium carboxyméthylcellulose, 5 g d'amidon de maïs, 7,5 g
10 d'hydroxypropylcellulose et 20 g de cellulose microcristallisée et 30 ml d'eau sont ajoutés et malaxés pour obtenir une masse granulaire. La masse est granulée au moyen d'un granulateur (Granulateur ECK de Fuji Paudal Co., Japon) équipé avec
15 un tamis (B.S.) n° 24 ayant des mailles de 622 microns pour obtenir des granulés. Les granulés sont séchés jusqu'à ce que la teneur en humidité soit inférieure à 5% et tamisés avec le tamis (B.S.) n° 16 ayant des mailles de 1003 microns. Les granulés tamisés sont mis en cachets au moyen d'une machine à
20 remplir les cachets à raison de 190 mg/cachet.

Exemple pharmaceutique 2 - Préparation de cachets mous pour usage oral.

- Une solution homogène est préparée en mélangeant 50 g de chlorhydrate de N-méthyl N-benzylsolanesylamine avec 130 g de
25 polyéthylèneglycol (Macrogol 400). Séparément, une solution de gélatine est préparée qui contient 93 g de gélatine, 19 g de glycérine, 10 g de D-sorbitol, 0,4 g de parahydroxybenzoate d'éthyle, 0,2 g de parahydroxybenzoate de propyle et 0,4 g d'oxyde de titane et qui est utilisée sous forme d'un agent
30 filmogène pour cachets. La solution obtenue précédemment en même temps que l'agent filmogène pour cachets sont traités avec un emporte-pièce plat du type manuel pour obtenir des cachets contenant chacun 180 mg.

Exemple pharmaceutique 3. Injections.

- 35 Un mélange de 5 g de chlorhydrate de N-méthyl-N-phénylsolanesylamine, une quantité appropriée d'huile d'arachides et 1 g d'alcool benzylique sont complétés à un total de 100 cm³

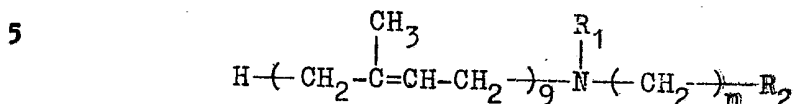
par addition d'huile d'arachides. La solution est versée par portions à raison de 1 cm³ dans des conditions aseptiques dans une ampoule qui est ensuite scellée.

Exemple pharmaceutique 4 - Injections.

- 5 Un mélange de 1 g de chlorhydrate de N-phénéthylsolane-sylamine, 5 g de "Nikkol HCO 60" (marque commerciale) (huile de ricin hydrogénée éthérifiée avec 60 moles de polyoxyéthylène), 20 g de propylèneglycol, 10 g de glycérol et 5 g d'alcool éthylique sont mélangés avec 100 ml d'eau distillée et
- 10 agités. Dans des conditions aseptiques, la solution est versée par portions à raison de 1,4 ml dans une ampoule qui est ensuite scellée.

REVENDICATIONS

1. Dérivé de la nonaprénylamine représenté par la formule générale :



où n désigne un nombre entier de 0 à 2, R₁ désigne un atome
 10 d'hydrogène, un groupe alkyle inférieur ou un groupe nonaprényle et R₂ désigne un groupe phényle;
 ainsi que les sels acides d'addition.

2. Chlorhydrate de N-benzylsolanesylamine.

3. Chlorhydrate de N-phénéthylsolanesylamine.

15 4. Composition pharmaceutique appropriée pour le traitement de maladies virales, caractérisée par le fait qu'elle renferme au moins un composé défini dans l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 3.

5. Composition pharmaceutique selon la revendication 4,
 20 caractérisée par le fait qu'elle renferme également des excipients et/ou des matières auxiliaires pharmaceutiquement acceptables.