

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

⑫

N° 80 17664

⑤④ Composition pharmaceutique comprenant un dérivé de l'acide aminobenzoïque pour réguler les prostaglandines.

⑤① Classification internationale (Int. Cl.³). A 61 K 31/70 // C 07 H 15/20.

②② Date de dépôt..... 11 août 1980.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée : *Japon, 3 juillet 1980, n° 91113/80.*

④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 1 du 8-1-1982.

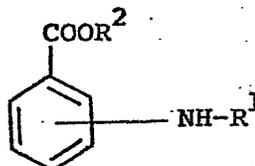
⑦① Déposant : Société dite : KUREHA KAGAKU KOGYO KK, résidant au Japon.

⑦② Invention de : Chiakao Yoshikumi, Fumio Hirose, Yoshio Ohmura, Takayoshi Fujii, Masanori Ikuzawa, Kenichi Matsunaga, Minoru Ohhara et Takao Ando.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Société de protection des inventions,
25, rue de Ponthieu, 75008 Paris.

La présente invention concerne une composition pharmaceutique destinée à la régulation des prostaglandines dans les organismes des mammifères, qui comprend (a) comme ingrédient actif, un dérivé de l'acide aminobenzoïque répondant à la formule générale ci-dessous :



dans laquelle R¹ désigne un membre choisi dans le groupe constitué par les radicaux formés en enlevant OH en position 1 (alpha) ou 1 (beta) de l'arabinose, du xylose, du rhamnose, du glucose, du galactose, du mannose et du fructose, et R² est un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁ à C₄ ou un métal pharmaceutiquement acceptable et (b) un support ou un diluant pharmaceutiquement acceptable pour celui-ci.

Un groupe de composés connus sous le nom générique de prostaglandines (désignés ci-après par PG ou PGs (au pluriel)) ont pris récemment de l'importance du fait de leurs fonctions physiologiques variées dans les organismes des mammifères. Cependant, comme certaines des PGs ont des demi-vies courtes ou sont instables, leur utilisation comme produits pharmaceutiques a posé des problèmes. Il existe un procédé pour réguler les PGs formés dans les organismes des mammifères, par exemple l'administration d'aspirine (voir Nature, N° 239 : 33-34, 1972).

Cependant, l'aspirine est un inhibiteur de la cyclooxygénase qui participe au stade précoce du métabolisme des PGs, et en conséquence, l'aspirine doit être considérée comme le bloquant de tous les PGs.

En d'autres termes, l'aspirine doit être considérée
comme un régulateur de la production de toutes les
PGs, et elle n'a pas d'activité d'augmentation de la
production d'une certaine Pg ou de certaines PGs, et
5 en conséquence, il existe naturellement une limite à
l'activité de l'aspirine comme régulateur des PGs.
En outre, l'aspirine a des effets secondaires, elle
provoque des troubles gastro-entériques chez les mammi-
fères, son administration à long terme pose donc des
10 problèmes.

Après avoir cherché un composé susceptible
de réguler les PGs sans présenter d'effets secondaires
dans la mesure du possible, la demanderesse a trouvé
qu'une série de dérivés de l'acide amino-benzoïque
15 représenté par la formule générale (1) ci-dessus, ont
une activité régulatrice effective des PGs et elle a
abouti à la présente invention.

Le dérivé ci-dessus de l'acide amino-benzoïque
destiné à l'utilisation comme ingrédient actif confor-
20 mément à la présente invention est un composé chimi-
quement et physiquement connu. Inoue et al ont décrit
la synthèse chimique de ce composé (voir J. Agr. Chem.
Soc. Japan, Vol. 25, p. 59 - 63 et 291 -293 (1951), et
Chemical Abstracts Vol. 48, Colonnes 2001d et 2001i
25 (1954)) et certaines propriétés physiques du composé
(voir J. Agr. Chem. Soc. Japan, Vol. 26, p.329 - 331
(1952)), et Chemical Abstracts Vol. 48, Colonne 2003a
(1954)).

Cependant, dans les références ci-dessus,
30 rien n'est indiqué en ce qui concerne les propriétés
physiologiques ou pharmaceutiques du composé ci-dessus.
En outre, aucune indication n'a été trouvée jusqu'à
présent concernant les propriétés physiologiques et/ou
pharmacologiques du composé répondant à la formule
35 générale (1).

Par un de ses aspects, l'invention concerne une composition pharmaceutique capable de réguler les prostaglandines PGs dans les organismes des mammifères, basée sur l'utilisation médicale nouvelle des composés chimiques représentés par la formule générale (1) ci-dessus :

Dans les dessins,

- 5 - la Fig. 1 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par l'acide arachidonique,
- 10 - la Fig. 2 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par le diphosphate d'adénosine (ADP),
- 15 - la Fig. 3 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par le collagène,
- la Fig. 4 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par l'épinéphrine,
- 20 - la Fig. 5 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par la ristocétine,
- la Fig. 6 montre l'effet de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes par la thrombine,
- 25 - la Fig. 7 montre l'effet de la substance de l'invention sur le taux de monophosphate d'adénosine cyclique (AMP cyclique) dans la plaquette,
- la Fig. 8 montre l'effet de la substance de l'invention sur la production de malonedialdéhyde (MDA) dans la plaquette,
- 30 - la Fig. 9 montre l'effet de l'indométhacine sur l'action hypotensive de la substance de l'invention,
- 35 - la Fig. 10 montre l'effet de la substance de l'invention sur le taux d'AMP cyclique dans les

cellules cancéreuses,

- la Fig. 11 montre l'effet de la substance de l'invention sur la production de prostaglandines I_2 (PGI_2) dans les fibroblastes 3T3;

5 - la Fig. 12 montre l'effet de la substance de l'invention sur le taux de prostaglandine $F_{2-\alpha}$ ($PGF_{2-\alpha}$)

- la Fig 13 montre l'effet de la substance de l'invention sur le taux de prostaglandine E (PGE),

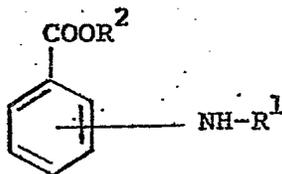
10 - la Fig. 14 montre l'effet de la substance de l'invention sur le taux de PGs dans le plasma de rats auxquels on a administré la substance de l'invention,

- la Fig. 15 montre l'effet de la substance de l'invention sur la prévention de l'agrégation des plaquettes induites par l'ADP, et

15 - la Fig. 16 montre l'effet de la substance de l'invention sur la réduction du taux de PGE dans le fluide cérébrospinal après qu'il a été élevé par des microbes pyrogènes.

20 L'ingrédient actif de la composition pharmaceutique de la présente invention désigné ci-après substance de l'invention est un composé répondant à la formule (1) ci-dessous :

25



30 dans laquelle R^1 désigne un membre choisi dans le groupe constitué par les radicaux formés en enlevant OH en position 1 (alpha) ou 1 (beta) de l'arabinose, du xylose, du rhamnose, du glucose, du galactose, du mannose et du fructose, et R^2 est un atome d'hydrogène,

35 un groupe alkyle en C_1 à C_4 ou un métal pharmaceutiquement acceptable.

Etant donné que la substance de l'invention, comme il sera expliqué ci-après, présente une toxicité orale aiguë extrêmement faible, ne possède pas de mutagénicité, n'affecte pas l'immunité cellulaire et
5 humorale de l'hôte et ne perturbe pas la flore bactérienne gastro-intestinale du fait de l'absence d'activité anti-bactérienne, elle peut être administrée par voie orale à long terme sans risque de mutagénèse ou d'allergie.

10 En conséquence, la substance de la présente invention est un produit pharmaceutique d'une grande sécurité d'emploi.

Dans la formule générale (1) ci-dessus de la substance de l'invention, R^1 désigne en abrégé un
15 radical d'un monosaccharide, et le monosaccharide peut être soit sous la forme D, soit sous la forme L, soit un anomère alpha, soit un anomère beta, soit un mélange des anomères. En conséquence, la substance de l'invention peut elle-même être soit un alpha-anomère, soit
20 un bêta-anomère, soit un mélange des anomères.

Dans la formule générale (1) ci-dessus, R^2 est un atome d'hydrogène, un métal pharmaceutiquement acceptable tel que Na, K, 1/2 Ca, 1/2 Mg, 1/3 Al ou un
25 groupe alkyle tel qu'un groupe méthyle, éthyle, propyle et butyle.

Le procédé de préparation de la substance de l'invention peut être décrit à titre d'exemple de la façon suivante :

30 On chauffe un mélange de 5 g d'acide p-amino-benzoïque, de 5 à 6 g d'un monosaccharide tel que le L-arabinose, le D-xylose, le L-rhamnose, le D-glucose, le D-galactose, le D-mannose et le D-fructose, et 0,1 à 0,5 g de chlorure d'ammonium, de chlorure de magnésium, d'acide

formique, d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique, dans 40 à 90 ml d'éthanol à 95-100 % ou de méthanol pur, sous un condenseur à reflux, pour amorcer la condensation.

Lorsque la réaction est terminée, on laisse
5 le réactif à la température ambiante ou dans un endroit froid et on recueille par filtration les cristaux qui se séparent. On les lave à l'eau, à l'éthanol ou à l'éther éthylique, puis on les fait recristalliser dans du méthanol, de l'éthanol ou une solution aqueuse de
10 méthanol ou d'éthanol.

Pour remplacer l'atome d'hydrogène du groupe carboxyle du composé ainsi préparé par une base, il est préférable de suivre le procédé connu. On dissout le composé, N-pyranoside de l'acide p-aminobenzoïque
15 dans une solution aqueuse éthanolique et on ajoute à la solution un sel minéral pour effectuer la substitution.

Les propriétés physiques de certaines substances de l'invention (l'ingrédient actif de la composition pharmaceutique de la présente invention) préparées par les
20 procédés ci-dessus sont indiquées dans le tableau I. Les substances de l'invention figurant dans le tableau I sont désignées ci-après sous le nom d'échantillons N^{os} 1 à 11.

TABLEAU I
Propriétés physiques des ingrédients actifs

Echantillon N°	Nom de la substance de l'invention	Point de fusion (°C)	Pouvoir rotatoire $[\alpha]_{D20}$	Composition élémentaire (%) C : H : N	Maximum d'absorption UV (millimicron)
1	N-D-galactoside de l'o-aminobenzoate de sodium	157 - 163 (décomp.)	9 dans l'eau	48,5:5,2:4,4 (48,6:5,0:4,4)*	317, 248, 215
2	N-L-rhamnoside de l'o-aminobenzoate de sodium	152 - 162 (décomp.)	+ 54 dans l'eau	51,0:5,4:4,9 (51,1:5,2:4,6)	320, 249, 215
3	N-D-mannoside du m-aminobenzoate de sodium	130 - 145	+5 (H ₂ O)	48,5:5,0:4,2 (48,6:5,0:4,4)	274
4	N-D-mannoside du p-aminobenzoate de sodium	185 - 196 (décomp.)	- 2 dans l'eau	46,1:5,5:4,0 (46,0:5,3:4,1)	274
5	N-D-glucoside du p-aminobenzoate de sodium	145 - 160	- 55 dans l'eau	45,8:5,2:4,3 (46,0:5,3:4,1)	274

TABLEAU 1 (Suite)

6	N-D-galactoside du p-aminobenzoate de sodium	150 - 162	+ 10 dans l'eau	46,0:5,6:4,1 (46,0:5,3:4,1)	275
7	N-D-xyloside d p-aminobenzoate de sodium	149 - 158	0 dans l'eau	49,3:4,9:4,8 (49,5:4,8:4,8)	274
8	N-L-rhamnoside du p-aminobenzoate de sodium	173 - 178 (décomp.)	+ 80 dans l'eau	51,0:5,1:4,8 (51,1:5,2:4,6)	273
9	N-D-fructoside du p-aminobenzoate de sodium	180 - 205	- 4 dans l'eau	48,8:4,9:4,3 (48,6:5,0:4,4)	290
10	N-L-arabinoside du p-aminobenzoate de sodium	163 - 173 (décomp.)	- 41 dans l'eau	50,0:4,2:4,7 (49,8:4,2:4,8)	274
11	N-D-mannoside de l'o-aminobenzoate de méthyle	177 - 178	- 54 dans l'éthanol	49,1:6,1:4,3 (48,1:6,6:4,0)	330, 251

Note : * Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs théoriques de C, H et N (%)

1) Point de fusion :

Il est déterminé en utilisant un micro-appareil de détermination des points de fusion fabriqués par les Yanagimoto Works, Japon.

5 2) Pouvoir rotatoire :

Il est déterminé en utilisant un polarimètre à lecture directe modèle OR-50 fabriqué par les Yanagimoto Works, Japon, avec une épaisseur de 50 mm d'une solution aqueuse éthanolique de l'ingrédient actif
10 acide et une solution aqueuse du sel de sodium d'un ingrédient actif acide.

3) Composition moléculaire :

L'analyse élémentaire a été effectuée en utilisant un CHN-Coder modèle MT-2 fabriqué par les
15 Yanagimoto Works, Japon.

4) Spectre d'absorption ultraviolette :

Il est déterminé en utilisant un spectrophotomètre enregistreur modèle PS-3T fabriqué par Hitachi Works, Japon, sur une solution aqueuse étha-
20 nolique de l'ingrédient actif acide et sur une solution aqueuse du sel de sodium de l'ingrédient actif acide du médicament.

On donnera ci-après les propriétés physiologiques des substances de l'invention décrites dans
25 l'ordre suivant : (1) toxicité aiguë, (2) activité antimicrobienne, (3) mutagénicité, (4) réaction intracutanée du type retard, (5) activité productrice d'anticorps et (6) effets sur l'estomac.

(1) Toxicité orale aiguë :

30 La toxicité orale aiguë des substances de l'invention a été examinée en utilisant des groupes de souris ICR-JCL et en administrant de force par voie orale chacun des représentants des substances de l'invention sous forme d'une solution aqueuse dans
35 l'eau distillée ou sous forme d'une suspension aqueuse également dans l'eau distillée à des doses déterminées

à l'avance, respectivement. Après avoir observé les symptômes toxicologiques éventuels, pendant 6 jours, et enregistré la mortalité jusqu'au septième jour à partir de l'administration, on a calculé la DL₅₀ (orale aiguë) par la méthode de Litchfield-Wilcoxon, et on a effectué l'autopsie sur des souris mortes et sur des souris vivantes pour obtenir des renseignements.

Le tableau 2 donne les résultats obtenus. On voit que la DL₅₀ (orale aiguë) des représentants des substances de l'invention est très élevée, ce qui montre qu'elle possède une toxicité extrêmement faible.

TABLEAU 2

15 Toxicité orale aiguë des substances représentatives

Echantillons	Nom de la substance de l'invention	DL ₅₀ (g/kg) p.o.
20	1 N-D-galactoside de l'o-aminobenzoate de sodium	6,10
	2 N-L-rhamnoside de l'o-aminobenzoate de sodium	12,50
25	3 N-D-mannoside du m-aminobenzoate de sodium	> 10
	4 N-D-mannoside du p-aminobenzoate de sodium	> 10
	5 N-D-glucoside du p-aminobenzoate de sodium	> 15
30	6 N-D-galactoside du p-aminobenzoate de sodium	14,55
	7 N-D-xyloside du p-aminobenzoate de sodium	11,75
35	8 N-L-rhamnoside du p-aminobenzoate de sodium	12,80

9	N-D-fructoside du p-aminobenzoate de sodium	> 10
10	N-L-arabinoside du p-aminobenzoate de sodium	10,80
5 11	N-D-mannoside de l'o-aminobenzoate de méthyle	> 7,5

En outre, aucune observation anormale n'a été faite lors de l'autopsie sur les animaux morts et les animaux vivants.

(2) Activité anti-microbienne :

10 La substance de l'invention a été dissoute dans de l'eau distillée, dans une série de systèmes de dilution au double. Ces solutions diluées ont été mélangées avec un milieu à l'agar-agar dans neuf fois leur volume et le mélange a été versé dans une boîte
15 de pétri. On a utilisé pour les bactéries un milieu d'infusion de coeur-agar et un milieu à l'agar-agar de Sabouraud pour les champignons. Après avoir été rayé avec la pré-culture, les plaques inoculées ont été
20 mises à incuber à 37°C pendant 20 à 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 3 à 7 jours pour les champignons, puis la croissance a été examinée. Les micro-organismes suivants ont été utilisés pour déterminer l'activité anti-microbienne de la substance de l'invention :

25 Pseudomonas aeruginosa IAM 1514
Escherichia coli IFO 12734
Staphylococcus aureus 209 P
Bacillus subtilis IAM 1069
Saccharomyces cerevisiae IAM 4207
30 Candida albicans ATCC 752
Trichophyton mentagrophytes IFO 6124
Aspergillus niger IAM 3001

Les essais ci-dessus ont montré qu'aucun
des ingrédients actifs essayés ne présentaient
35 d'inhibition de la croissance de tous les micro-organismes à la concentration de 1 mg/ml.

(3) Mutagénicité :

Dans un premier stade, les substances de l'invention ont été soumises à l'essai "rec" (i), et dans un second stade, elles ont été soumises à un
5 essai de réversion (ii).

(i) Une souche de Bacillus subtilis M 45, un déficient de la réparation par recombinaison, et une souche sauvage de Bacillus subtilis H 17 conservant une activité de réparation par recombinaison ont été
10 inoculés de façon à faire leur propre trait non croisés au départ sur une plaque de culture sur agar-agar B - 2 (préparé en dissolvant 10 g d'extrait de viande, 10 g de polypeptone, 5 g de chlorure de sodium et 15 g d'agar-agar dans 1000 ml d'eau distillée à
15 pH 7,0). Puis on place sur la surface de la plaque d'agar-agar un disque de papier de 8 mm de diamètre, ayant absorbé 0,04 ml d'une solution aqueuse de la substance de l'invention dans de l'eau distillée, de façon à recouvrir le point de départ des traits mentionnés
20 ci-dessus de culture bactérienne. On conserve la plaque d'agar-agar B-2 inoculée à 37°C pendant une nuit et on mesure la longueur de la région dont la croissance à été inhibée. Comme témoin négatif, on utilise la Kanamycine et comme témoin positif la Mytomycine C.
25 Les résultats de l'essai "rec" sont donnés dans le tableau III.

(ii) Les souches TA 98 et TA 100 (toutes deux exigent de l'histidine) de Salmonella typhimurium ont été utilisées pour l'essai de réversion .

30 Dans 2 ml d'un milieu de culture à l'agar agar mou (le milieu lui-même contient 6 g de chlorure de sodium et 6 g d'agar-agar dans 1000 ml d'eau distillée) auquel on a ajouté le dixième de son volume d'une solution aqueuse de biotine 0,05 mM et d'histidine 0,5 mM,
35 0,1 ml de la suspension bactérienne et 0,1 ml d'une solution aqueuse de la substance de l'invention sont

mélangés et on étend le mélange sur le milieu de culture à l'agar-agar minimum. Après deux jours d'incubation à 37°C, on compte le nombre de colonies de révertant. Comme témoin positif, on utilise du
5 furylfuramide (AF-2). Les résultats de l'essai de reversion sont donnés dans le tableau 4.

Comme le montre le tableau 3, les substances de l'invention présentent une faible mutagénicité, seulement à concentration élevée (5000 microgrammes/
10 disque). Le tableau 4, montre que la vitesse d'apparition de la mutation par la substance de l'invention ne présente aucune différence par rapport au témoin auquel aucune substance n'a été ajoutée, même à une concentration élevée (5000 microgrammes/plaque). Ces observations
15 montrent que la substance de l'invention est d'un emploi sûr en ce qui concerne la mutagénicité.

TABIEAU 3
Résultat de l'essai "rec"

Echantillon N°	Nom de la substance de l'intention	Concentration (µg/disque)	Longueur d'inhibition		* Différence des zones de crois- sance (mm)
			M 45 (mm)	H 17 (mm)	
1	N-D-galactoside de l'o-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 6	0 1	0 5
2	N-L-rhamnoside de l'o-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 6	0 2	0 4
3	N-D-mannoside du m-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 7	0 1	0 6
4	N-D-mannoside du p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0

5	N-D-glucoside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
6	N-D-galactoside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
7	N-D-xyloside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
8	N-L-rhamnoside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
9	N-D-fructoside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
10	N-L-arabinoside de p-aminobenzoate de sodium	500 5 000	0 0	0 0	0 0
11	N-D-mannoside de 1'0-aminobenzoate de méthyle	500 5 000	0 7	0 3	0 4
	Kanamycine Mitomycine C	10 0,05	5 12	4 2	1 10

Note : * Différence = longueur de la zone d'inhibition de M 45 moins longueur de la zone d'inhibition de H 17.

TABIEAU 4
Résultats de l'essai de réversion

Echan- tillon N°	Nom de la substance de l'invention	Concentration (µg/plaque)	Nombre de colonies de révertants (nombre par plaque)	
			TA 100	TA 98
1	N-D-galactoside de l'o-aminobenzoate de sodium	5 000	151	6
2	N-L-rhamnoside de l'o-aminobenzoate de sodium	5 000	61	9
3	N-D-mannoside de m-aminobenzoate de sodium	5 000	90	6
4	N-D-mannoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	138	5
5	N-D-glucoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	104	11

Tableau 4 (suite)

6	N-D-galactoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	51	7
7	N-D-xyloside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	58	4
8	N-L-rhamnoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	73	4
9	N-D-fructoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	95	5
10	N-L-arabinoside de p-aminobenzoate de sodium	5 000	95	8
11	N-D-mannoside de l'0-aminobenzoate de méthyle	5 000	51	3
	Furylfuramide	0,1	911	167
	Témoin (aucune addition)	-	149	13

(4) Réaction intracutanée du type retard :

Pour connaître les effets des substances de l'invention sur l'immunité cellulaire, on a effectué l'essai de réaction du coussinet plantaire en utilisant
5 comme animaux d'expérience des souris ICR-JCL et comme antigènes des érythrocytes de mouton.

Une souris a fait l'objet d'une sensibilisation primaire par injection de 0,2 ml d'une suspension aqueuse à 10 % d'érythrocytes de mouton dans du sérum physio-
10 logique par la veine caudale et, sept jours après la première sensibilisation, on a injecté dans le coussinet plantaire 0,05 ml d'une suspension aqueuse à 40 % d'érythrocytes de mouton dans du sérum physiologique pour une seconde sensibilisation. L'épaisseur du cou-
15 sinet plantaire a été déterminée le jour suivant. L'administration de la substance de l'invention a été effectuée à la dose de 250 mg/kg/jour une fois par jour pendant cinq jours consécutifs en se centrant sur le jour où la première sensibilisation a été effectuée.

20 On a trouvé que l'augmentation d'épaisseur du coussinet plantaire des souris ayant reçu une administration des substances de l'invention ne présentait pas de différence significative par rapport à l'augmentation dans le groupe des souris n'ayant reçu aucune
25 administration d'ingrédients actifs.

(5) Activité de production d'anticorps :

Pour connaître les effets des substances de l'invention sur l'immunité humorale, on a effectué le test d'hémagglutination en utilisant des souris
30 ICR-JCL sensibilisées avec des érythrocytes de mouton.

Une souris a été sensibilisée par injection de 0,2 ml d'une suspension aqueuse à 10 % d'érythrocytes de mouton dans du sérum physiologique par la veine caudale et, sept jours après la sensibilisation, le
35 sang de la souris a été échantillonné pour l'essai d'hémagglutination pour la détermination de l'activité

de production d'anticoprs. La substance de l'invention a été administrée pendant cinq jours consécutifs en se centrant sur le jour de la sensibilisation, par voie intrapéritonéale, à la dose de 250 mg/kg/jour.

5 Aucune différence significative n'a été observée dans le titre d'agglutination entre le groupe ayant reçu la substance de l'invention et le groupe témoin.

10 (6) Effet de la substance de l'invention sur l'estomac :

On a administré respectivement 5 g de la substance de l'invention (chacun des échantillons N^{os} 1, 2, 3, 4, 5, 6,,7, 8, 9, 10 et 11) et d'aspirine à chaque chien Beagle d'un poids corporel de
15 9 à 12 kg sous la forme de suspension aqueuse dans de l'eau distillée ajustée à pH 3, et 90 minutes après l'administration, on a examiné l'état hémorragique de l'estomac du chien. On a observé d'hémorragie sto-
machale que sur les chiens ayant reçu de l'aspirine,
20 cependant aucune hémorragie stomachale n'a été trouvé chez les chiens ayant reçu respectivement chacun es échantillons n^{es} 1 à 11.

La description ci-après est le résumé des spécificités pharmaceutiques des substances de l'inven-
25 tion, une description plus détaillée étant donnée dans les exemples :

(1) régulation des prostaglandines :

La substance de l'invention concerne la régulation des PGs tels que PGA, PGB, PGC, PGD, PGE,
30 PGF, PGG, PGH, PGI, TXA et TXB et leurs produits métaboliques. En outre, la substance de l'invention ne se borne pas à réguler l'une quelconque des PGs ci-dessus, mais elle régule également plusieurs espèces de PGs.

35 La fonction régulatrice de la substance de l'invention sur la production de PGs et de leurs

métabolites est indiquée par les faits suivants :

(a) suppression de l'agrégation des plaquettes :

5 Il est connu que l'agrégation des plaquettes est principalement induite par PGG_2 , PGH_2 et TXA_2 et il a été confirmé que la substance de l'invention a une fonction de suppression de l'agrégation des plaquettes (voir exemples 2 et 5).

10 (b) augmentation du monophosphate d'adénosine cyclique :

Il est connu que le monophosphate d'adénosine cyclique (AMP cyclique) est étroitement apparenté aux PGs, en particulier à PGD, PGE et PGI, et la substance de l'invention a présenté une fonction d'augmentation du taux de AMP cyclique dans les plaquettes et les cellules de culture (voir exemples 3, 6 et 8).

(c) suppression de l'augmentation de malondialdéhyde :

20 Il a été confirmé que la substance de l'invention a une fonction inhibitrice sur la production de malondialdéhyde (MDA) dans les plaquettes, le MDA étant connu comme produit métabolique des PGs (voir exemple 4).

(d) accélération de la production de PGI_2 :

25 Il a été confirmé que la substance de l'invention a un effet d'accélération de la production de PGI_2 dans les cellules utilisées in vitro (voir exemple 7).

(e) effet en rapport avec la production de certains PGs :

30 Conformément aux résultats expérimentaux sur le métabolisme des PGs in vitro en utilisant comme matière de départ l'acide arachidonique, il a été montré que la substance de l'invention est en rapport avec la production de PGD_2 , PGE_2 , 6-céto- $PGF_{1-\alpha}$ et $PGF_{2-\alpha}$ (voir exemple 1).

(f) effet sur la biosynthèse de PGE et
PGF_{2-α} :

Il a été montré par une expérience de culture
in vitro que la substance de l'invention exerce un
5 effet sur la biosynthèse de PGE et PGF_{2-α} (voir
exemples 9 et 10).

(g) inhibition de la prolifération des
cellules tumorales :

L'examen de la prolifération de cellules
10 tumorales et le taux de PGE cellulaire intratumoral
sur des animaux d'expérience portant des tumeurs ayant
reçu la substance de la présente invention a confirmé
l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales
et aussi l'augmentation du taux de PGE dans les cel-
15 lules tumorales des animaux ayant reçu la substance
de l'invention (voir exemples 11, 12, 13 et 14).

(h) effet de renforcement du transfert
de pigment :

Dans une expérience dans laquelle la substance
20 de l'invention a été administrée à des animaux d'expé-
rience portant des tumeurs et dans laquelle le degré
de transfert d'un colorant dans le tissu tumoral de
l'animal était examiné, un effet renforçateur sur le
transfert du colorant exogène a été confirmé, ce qui
25 suggère l'effet vaso-dilatateur de la substance de
l'invention (voir exemple 15).

(i) inhibition des métastases des tumeurs :

Dans une expérience dans laquelle la substance
de l'invention a été administrée à des animaux expé-
30 rimentaux avant et après la transplantation de cellules
tumorales aux animaux, on a constaté un effet d'inhibi-
tion des métastases des cellules tumorales transplantées
(voir exemple 16).

(j) réduction du taux de 6-céto-PGF_{1-α} :

35 Chez des animaux portant des tumeurs, il a
été observé que le taux de 6-céto-PGF_{1-α} dans leur

plasma est augmenté de façon remarquable par comparaison à celui d'animaux ne portant pas de tumeurs, cependant, il a été confirmé que le taux augmenté est ramené à la normale par administration de la substance de l'invention
5 (voir exemple 17).

En général, les PGs ont été trouvées dans plusieurs organes du corps entier, et elles ont des relations étroites avec les fonctions des organes. En outre, on sait que les fonctions physiologiques
10 et pharmacologiques de PGs couvrent un domaine extrêmement vaste. C'est-à-dire que les PGs agissent principalement sur la dilatation et la contraction des vaisseaux sanguins en ce qui concerne leur action pharmacologique sur le système circulatoire, la PGE et la
15 PGI étant plus fortes pour la dilatation, et la TXA contractant au contraire l'artère. Ces fonctions entraînent l'augmentation ou la réduction de la pression sanguine et constituent un remède à la sténocardie et à l'arrhythmie.

Bien qu'une action trop prolongée d'agrégation des plaquettes provoque l'artériosclérose, l'infarctus cérébral, les infarctus du myocarde et l'apoplexie
20 cérébrale, les PGs ont des effets prononcés sur les plaquettes. C'est-à-dire que la PGD, la PGE et la PGI ont une fonction antagoniste contre l'action d'agrégation des plaquettes, et la TXA₂, la PGG₂, la PGH₂ et
25 la PGE₂ ont une action d'amorçage ou d'accélération sur l'agrégation. En conséquence, il est clair que les traitements et la prévention des maladies ci-dessus
30 seraient rendus possibles par un ajustement approprié des PGs.

En outre, dans les diabètes on a indiqué que la production de PGI₂ dans le système vasculaire du malade diabétique est limitée, ou que la teneur en PGE
35 et en PGF₂ est élevée, et les relations entre cette maladie et les PGs ont été progressivement élucidées.

Les fonctions des PGs dans le système respiratoire ont également été étudiées et il est connu que la PGE réduit la résistance des conduits aériens. Ceci suggère un effet anti-asthme, d'accélération de la respiration, anti-toux et anti-expectoration.

Par ailleurs, en tant que fonction concernant l'immunité, l'action suppressive sur la libération de la substance à réaction lente de l'anaphylaxie a été constatée dans la PGI₂ et ses métabolites. Les PGs ont aussi une action anti-allergique, une action anti-anaphylactique et il est à présumer qu'elles seront efficaces dans le traitement de diverses maladies auto-immunes, en particulier les maladies inguérissables que constituent les rhumatismes.

Il est bien connu que l'indométhacine, médicament anti-inflammatoire actuellement dans le commerce, est apparenté à la cyclooxygénase dans la voie métabolique des PGs et que plusieurs espèces de PGs concernent l'action inflammatoire. En résumé, on peut s'attendre à un effet anti-inflammatoire par la régulation du métabolisme des PGs.

D'autre part, les PGs exercent un effet marqué sur le système digestif : la PGE et la PGI suppriment la sécrétion du suc gastrique, et elles passent par conséquent pour présenter une action anti-ulcère. Cette action serait particulièrement forte pour la PGI.

En ce qui concerne le rein, la PGI présenterait principalement une action diurétique. Parmi les agents anti-hypertensifs du commerce, la place occupée par les diurétiques est toujours importante, de sorte que l'augmentation de la production de PGI₂ la rend intéressante comme diurétique et comme agent anti-hypertensif. L'action pharmacologique des PGs sur le système génital est également bien connue, et les PGs interviennent pour faciliter l'action du mouvement utérin et la

tension utérine ou inversement l'action suppressive de la tension utérine. Ces fonctions sont à la base de l'évaluation du PGs comme agent d'accélération pour l'accouchement, comme contraceptif et comme agent d'interruption de la grossesse.

En outre, l'action des PGs comme médicament psychoneural est à l'étude. Dans les cellules cérébrales, une grande quantité de PGD est répartie, et on examine à présent avec un vif intérêt une relation possible entre l'épilepsie et la PGD.

On sait que la péroxydation des lipides est accélérée par le vieillissement et l'artériosclérose, et qu'en conséquence l'activité de l'enzyme synthétisant la PGI est supprimée. En outre, on a indiqué également que cette PGI a une action stabilisante sur la membrane du lysosome. Ces faits montrent la valeur de la PGI comme agent anti-lipide péroxydé, et conduisent à la possibilité de prévenir les troubles dus aux radiations et le vieillissement. Récemment, les PGs ont reçu une attention particulière à propos des cancers. En particulier, plusieurs études ont été effectuées sur la PGD, la PGE et la PGI dans le domaine ci-dessus, et il a été découvert que ces PGs concernent l'effet supprimeur sur la prolifération de cellules cancéreuses, la normalisation de cellules cancéreuses, les métastases du cancer, etc. Ces faits passent pour suggérer la possibilité de supprimer la prolifération cancéreuse et d'éviter la métastase du cancer.

Comme il a été indiqué, les fonctions pharmacologiques des PGs couvrent divers domaines selon des modalités diverses, et il n'est pas exagéré de dire que les PGs interviennent de quelque façon dans toutes les maladies. En conséquence, comme la substance de l'invention régule les PGs, on peut s'attendre à ce que les PGs soient utiles pour prévenir et traiter les maladies ci-dessus.

Par exemple, en ce qui concerne sa fonction antitumorale, comme il a été décrit ci-dessus, une activité anti-tumorale contre les cellules L a été trouvée pour la PGE (D.R. Thomas et al., Experimental Cell Research 84, 40-46 (1974)), et on a constaté que l'augmentation et la diminution de la PGD étaient reliées à la formation de métastases et à la prolifération des tumeurs (F.A. Fitzpatrick et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 76 (4) 1765-1769 (1979)) et que la PGI avait une action suppressive sur la prolifération des tumeurs. Cependant, ces informations montrent seulement que chaque prostaglandine a une activité anti-tumorale constituant l'une de ces activités physiologiques. D'autre part, comme on le verra à l'exemple 1, la demanderesse a trouvé que la substance de l'invention a pour effet de modifier la quantité de PGD et de PGE dans les cellules, c'est-à-dire qu'elle a pour effet de réguler les PGs qui diffèrent l'une de l'autre dans la même cellule. De plus, comme le montre un autre exemple, il est clair que la substance de l'invention a une action suppressive ou accélératrice sur la TXA et la PGI, et ce fait montre clairement que la substance de l'invention ne se borne pas à modifier une prostaglandine unique, mais modifie aussi simultanément diverses PGs.

Une telle substance modifiant plusieurs espèces de prostaglandines simultanément n'était pas connue jusqu'à présent, et cette propriété peut être considérée comme particulière à la substance de l'invention.

On décrira à présent ci-dessous la formulation de l'ingrédient actif pour préparer la composition pharmaceutique de l'invention.

Lorsque la composition pharmaceutique est utilisée comme agent de régulation des PGs, il est possible d'utiliser la composition pharmaceutique sous

la forme permettant d'obtenir l'efficacité en fonction de la nature et des symptômes de la maladie, et en outre on peut utiliser l'ingrédient actif tel quel ou sous forme de mélange avec n'importe quel diluant acceptable dans les processus pharmaceutiques et avec d'autres médicaments.

La composition pharmaceutique de l'invention s'administre par voie orale, ou parentérale, et par conséquent, elle peut prendre n'importe quelle forme désirée convenant pour l'administration orale ou parentérale.

La composition pharmaceutique de l'invention peut être présentée sous forme de dose unitaire. Elle peut être sous forme de poudre, de granulés, de comprimé, de comprimé enrobé de sucre, de capsule, de suppositoire, de suspension, de solution, de concentré émulsionnable, d'ampoule, d'ampoule injectable, etc. Comme diluant, on peut utiliser n'importe quel diluant solide, liquide ou semi-solide, par exemple des excipients, des liants, des agents mouillants, des agents désintégrant, des surfactifs, des désémulsionnants, des dispersants, des agents tampons, des parfums, des conservateurs, des adjuvants de dilution et des solvants. En outre, on peut utiliser un ou plusieurs de ces adjuvants en combinaison ou en mélange.

La composition pharmaceutique de l'invention peut être formulée par n'importe quel procédé connu, et la proportion de l'ingrédient actif (substance de l'invention) contenue dans la composition (préparation) est en général de 0,01 % à 100 % en poids.

La composition pharmaceutique de l'invention peut être administrée par voie orale ou parentérale à l'homme ou aux animaux, mais il est préférable de l'administrer par voie orale. L'administration sublinguale est incluse dans l'administration orale. L'administration parentérale comprend l'injection sous-cutannée, intramusculaire et intraveineuse, et l'injection par le procédé à la goutte.

La dose de la composition pharmaceutique de l'invention dépend de l'âge, des différences personnelles, et de l'état du malade, elle varie aussi suivant qu'il s'agit d'un être humain ou d'un animal, mais elle se situe généralement dans les domaines suivants :

5 pour l'homme, la dose orale est de 0,1 à 1000 mg/kg du poids du corps/jour, de préférence de 1 à 500 mg/kg/jour et la dose parentérale est de 0,01-200 mg/kg/jour, de préférence de 0,1-100 mg/kg/jour, divisée en une à

10 quatre parties, une seule partie étant administrée à la fois.

On trouvera ci-après une explication plus détaillée de la formulation, de la production et des activités physiologiques de la composition pharmaceutique de l'invention, sous forme d'exemples.

EXEMPLE DE FORMULATION 1 : (dans ce qui suit, les parties sont en poids)

On mélange uniformément les constituants suivants, on pulvérise le mélange ou on le granule finement pour le transformer en une formulation pulvé-

20 rulente d'une taille moyenne inférieure à 350 :

- | | | |
|----|---------------------------------|------------|
| | (1) N-D-galactoside du p-amino- | |
| | benzoate de sodium | 10 parties |
| | (2) oxyde de magnésium lourd | 15 parties |
| 25 | (3) galactose | 75 parties |

La formule ainsi préparée est utilisée telle quelle ou après encapsulation.

EXEMPLE DE FORMULATION 2

On mélange uniformément les constituants ci-dessous, on les pulvérise et on les transforme en granulés humides. Ces granulés sont séchés et tamisés pour obtenir des granulés de 177 à 1410 μ :

- | | | |
|----|------------------------------|------------|
| | (1) N-D-xyloside du p-amino- | |
| | benzoate de sodium | 45 parties |
| 35 | (2) amidon | 15 parties |
| | (3) galactose | 16 parties |

	(4) cellulose cristalline	21 parties
	(5) alcool polyvinylique	3 parties
	et	
5	(6) eau utilisée dans la transformation pour préparer le granule humide	30 parties

EXEMPLE DE FORMULATION 3 :

Au lieu d'utiliser le N-D-xyloside du p-aminobenzoate de sodium dans l'exemple de formulation 2, on utilise le N-L-rhamnoside du o-aminobenzoate de sodium, pour préparer une formulation granulaire comme dans l'exemple de formulation 2. A 96 parties de la formulation granulaire ainsi préparée, on ajoute 4 parties de stéarate de calcium et on moule le mélange par compression en comprimés de 10 mm de diamètre.

EXEMPLE DE FORMULATION 4 :

A 90 parties de formulation granulaire préparées dans l'exemple de formulation 2, on ajoute 10 parties de cellulose cristalline et 3 parties de stéarate de calcium, et on moule par compression le mélange ainsi préparé en comprimés de 3 mm de diamètre. On enrobe les comprimés ainsi préparés au moyen d'une suspension mélangée comprenant de la gélatine en sirop et du carbonate de calcium précipité pour la transformer en comprimés enrobés de sucre.

EXEMPLE DE FORMULATION 5 :

On mélange intimement en chauffant les constituants ci-dessous et on introduit le mélange dans des ampoules puis on le stérilise pour l'injection.

30	(1) N-L-rhamnoside de m-amino-benzoate de sodium	0,6 partie
	(2) surfactif non ionique	2,4 parties
	et	
35	(3) solution aqueuse de sérum physiologique	97 parties.

EXEMPLE 1 :

Effet de la substance de l'invention sur le métabolisme des PGs de l'acide arachidonique fixé dans les lymphocytes.

5 Après avoir ajusté les lymphocytes prélevés dans la rate d'une souris BALB/C à une concentration de 1×10^7 cellules/ml, on ajoute $2 \mu\text{Ci}$ d'acide ^3H -arachidonique et on fait incuber le mélange à une température de 37°C pendant 90 minutes. On lave trois
10 fois les lymphocytes incubés avec le milieu de culture. Après avoir à nouveau ajusté les cellules à une concentration de 1×10^7 cellules/ml, on verse la culture dans quatre tubes à essai siliconés à raison de 2 ml/tube. Deux tubes à essai sont utilisés comme témoins,
15 et dans chacun des deux tubes à essai restants, on ajoute $500 \mu\text{g}$ de la substance de l'invention, dans cet exemple l'échantillon n° 7, puis on fait incuber les quatre tubes à essai à 37°C pendant 60 minutes. Après l'incubation, les tubes à essai sont centrifugés à
20 0°C pendant 5 minutes à 1200 tours/minute.

On introduit les granulés de cellules ainsi obtenus dans un flacon contenant 2 ml du milieu de culture, et après avoir ajouté 5 ml d'éther de pétrole, on agite le flacon et on élimine la couche éthérée,
25 la couche aqueuse restante étant ajustée à pH 3,5 avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,5N.

On extrait trois fois la solution aqueuse acide avec à chaque fois 5 ml d'éther, on sèche l'extrait
30 éthéré à sec. On soumet la matière solide à une estérification par une solution de diazométhane. On soumet le mélange réactionnel estérifié à une chromatographie sur une couche mince et on le développe avec un mélange acétate d'éthyle : iso-octane : acide acétique : eau
35 à 90 : 50 : 20 : 100 en volume. L'identification des taches qui apparaissent sur le chromatogramme est ef-

fectuée en utilisant les échantillons authentiques suivants de PGD₂, PGE₂, PGF_{2-α} et 6-céto-PGF_{1-α}. On élimine par grattage la couche de gel de silice du chromatogramme séparé et on la dissout dans un liquide en vue de son comptage dans un scintillateur à liquide. La modification des PGs est déterminée à partir de la variation des comptages. Le tableau 5 donne les résultats obtenus.

TABLEAU 5

10 Modification des prostaglandines dans une culture de cellules in vitro.

Quantité ¹⁾	PGs	6-céto-PGF _{1-α}	PGF _{2-α}	PGE ₂	PGD ₂
0		- ²⁾	-	-	-
500		± ³⁾	±	+ ⁴⁾	+

20 Notes : 1) quantité de substance de l'invention ajoutée, échantillon n° 7 (g/ml),
 2) aucune modification n'est observée,
 3) une légère modification est observée,
 4) une nette modification est observée.

25 On obtient des résultats similaires lorsqu'on utilise les échantillons n° 1 à 6 et 8 à 10 à raison de 500 µg/ml. Ces résultats montrent que les diverses substances de l'invention régulent le métabolisme des PGs même dans l'essai in vitro.

30 EXEMPLE 2 :

Action de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes :

35 Comme on sait aujourd'hui que l'agrégation des plaquettes est provoquée principalement par PGG₂, PGH₂ et TXA₂, qui sont toutes des PGs, l'action de la substance de l'invention sur l'agrégation des plaquettes

a été examinée comme suit :

Comme anti-coagulant, on a utilisé une solution aqueuse de citrate pour la détermination de la sédimentation des érythrocytes ; à une partie de la solution de citrate on a ajouté 9 parties de sang humain fraîchement recueilli. Le mélange a été centrifugé pendant 6 minutes à 400 x G et le liquide surnageant a été utilisé pour la préparation d'un plasma humain riche en plaquettes (PRP). Le reste a été centrifugé à nouveau pendant 20 minutes à 700 x G et le liquide surnageant a été conservé en tant que plasma pauvre en plaquettes (PPP). La modification de la transmittence du PRP a été mesurée dans un agrégomètre (type PAP-3, fabriqué par BIODATA, CO) pour déterminer le degré d'agrégation des plaquettes, l'agrégation étant provoquée par addition d'un agent agglutinant.

Les agents agglutinants utilisés ont été l'acide arachidonique (1,64 mmol), le diphosphate d'adénosine (50 μ mol), le collagène (0,26 mg/ml), l'épinéphrine (0,11 mmol), la ristocétine (2,0 mg/ml) et la thrombine (0,5 U/ml). Chacun des agents a été ajouté au PRP deux minutes après l'addition d'une des substances de l'invention (échantillons n° 1 à 8).

Les figures 1 à 6 donnent les résultats obtenus. On voit que chacune des substances de l'invention essayées présente un effet d'inhibition contre l'agrégation des plaquettes provoquée par chacun des agents agglutinants. Ce phénomène montre que chacune des substances de l'invention régule la production des PGs, en particulier celles de PGG₂, PGH₂ et TXA₂.

EXEMPLE 3 :

Action de la substance de l'invention sur le taux de monophosphate d'adénosine cyclique (AMP cyclique) :

L'AMP cyclique est connu pour être étroitement apparenté au PGs en plus de sa fonction de messenger

intracellulaire, et la relation est la plus étroite avec la PGD, la PGE et la PGI. En conséquence, dans le présent exemple, on a examiné l'influence de la substance de l'invention sur l'AMP cyclique dans la cellule de la plaquette de la manière suivante :

Le PRP (plasma riche en plaquettes) a été préparé par le procédé indiqué ci-dessus et il a été centrifugé pendant 20 minutes 700 x G pour obtenir un liquide surnageant nommé PPP (plasma pauvre en plaquettes). Le précipité a été remis en suspension dans 1/3 fois en volume de PPP pour préparer un PRP concentré trois fois.

Dans le PRP concentré ainsi préparé, chaque solution aqueuse des substances de l'invention a une concentration préétablie (dans ce cas, échantillons N° 4, 7 et 8) et une solution aqueuse de sérum physiologique, et le mélange a été mis à incuber à la température ambiante pendant 5 minutes. Puis les opérations d'ébullition, homogénéisation et centrifugation ont été effectuées dans cet ordre, et on a utilisé 50 µl du liquide surnageant pour doser l'AMP cyclique. La mesure a été effectuée par la méthode de Gilman. Comme témoin positif, on a utilisé la PGE₁. Les résultats sont donnés sur la figure 7. Comme le montre la figure 7, la substance de l'invention présente une action d'élévation du taux d'AMP cyclique cellulaire intra-plaquettaire, et ce fait laisse présumer que la substance de l'invention affecte le métabolisme des PGs.

EXEMPLE 4 :

Action de la substance de l'invention sur le taux de malondialdéhyde (MDA) des plaquettes :

Du PRP recueilli du sang humain a été centrifugé et lavé pour constituer des "plaquettes lavées". Après avoir ajouté une des substances de l'invention, (échantillons n° 4, 7 et 8), aux plaquettes lavées, on leur a encore ajouté du Caionophore A-23187 et on a fait

incuber le mélange pendant 5 minutes à 37°C. Puis on a ajouté au mélange incubé de l'acide thiobarbiturique, en tant qu'agent de développement de la coloration et on a extrait le mélange avec un mélange
5 de méthanol et de butanol. L'absorption à 535 nm a été lue colorimétriquement pour déterminer la quantité de malondialdéhyde (MDA). La figure 8 donne les résultats obtenus. La substance de l'invention supprime la production de MDA. Ce fait laisse présumer lui aussi
10 la participation de la substance de l'invention au métabolisme des PGs.

EXEMPLE 5 :

Effet de l'indométhacine sur l'action hypotensive de la substance de l'invention :

15 Il est connu que les PGs sont formés à partir de l'acide arachidonique et que la cyclooxygénase participe à la conversion de l'acide arachidonique en PGG₂, que l'indométhacine inactive la cyclooxygénase ci-dessus et en outre que le métabolisme des PGs est complètement
20 arrêté par l'administration d'indométhacine.

En conséquence, la variation de la pression sanguine des rats mâles spontanément hypertensifs (SHR) 30 à 40 semaines après la naissance a été comparée dans les deux cas (1) où seule la présente substance
25 est administrée à raison de 100 mg/kg, et (2) où de l'indométhacine est administrée deux fois à raison de 2,5 mg/kg/fois avant et après l'administration de la substance de l'invention. La substance de l'invention, échantillon n° 7, était dissoute dans de l'eau distillée ou
30 dispersée dans une solution aqueuse à 2% de carboxyméthylcellulose, puis administrée de force par voie orale. L'indométhacine était dispersée dans une solution aqueuse à 2% de carboxyméthylcellulose, et la dispersion était également administrée de force par voie orale,
35 une heure avant et après l'administration de la substance de l'invention.

Les résultats sont donnés sur la figure 9. L'effet hypotenseur de la substance de l'invention disparaît lorsque de l'indométhacine est administrée avant et après l'administration de la substance de l'invention. Compte tenu du fait que l'indométhacine est un inhibiteur du métabolisme des prostaglandines, l'efficacité de la substance de l'invention pour la réduction de la pression sanguine peut être attribuée à ses relations étroites avec les prostaglandines.

10 EXEMPLE 6 :

Action de la substance de l'invention sur le taux d'AMP cyclique dans la cellule tumorale du sarcome 180 :

15 La substance de l'invention a été ajoutée à 100 µl d'une tumeur du type ascitique prélevée dans la cavité abdominale de souris porteuses de sarcome 180 à une concentration déterminée à l'avance, dans ce cas l'échantillon n° 7, et le mélange a été mis à incuber à la température ambiante pendant 5 minutes. 20 Après l'incubation, la culture a été mise à bouillir, a été homogénéisée et centrifugée pour obtenir un liquide surnageant. Le liquide surnageant ainsi obtenu a été soumis à la détermination de l'AMP cyclique par la méthode de Gilman. Les résultats sont donnés dans 25 la figure 10. On a constaté que la substance de l'invention avait pour effet d'élever le taux d'AMP cyclique dans les cellules tumorales du sarcome 180. Ce fait laisse lui aussi présumer une participation de la substance de l'invention au métabolisme des PGs.

30 EXEMPLE 7 :

Influence de la substance de l'invention sur la productivité de PGI_2 des fibroblastes 3T3.

35 L'influence de la substance de l'invention sur la productivité de PGI_2 des fibroblastes 3T3 d'une souris a été examinée. Comme témoin, on a utilisé une culture dans laquelle de l'acide arachidonique précur-

seur des PGs, avait été ajouté à un milieu de culture de fibroblastes de souris 3T3, et le mélange a été mis à incuber pendant 5 minutes à 37°C pour produire de la PGI₂.

5 Par ailleurs, on a ajouté 30 mmol. de chacune des substances de l'invention (échantillons N° 1, 3, 4 et 7 à 11) à 4 ml d'un milieu de culture de cellules 3T3, et le mélange a été mis à incuber pendant 2 mn à 37°C. Après avoir ajouté de l'acide arachidonique
10 à la culture incubée, on l'a mise à incuber à nouveau comme pour le témoin pour produire PGI₂. Cette culture a été appelée groupe traité.

Après obtention des liquides surnageants respectifs des culture, du groupe témoin et du groupe
15 traité, on a comparé leur productivité de PGI₂ en utilisant l'action suppressive sur l'agrégation des plaquettes provoquée par l'addition de 2,43 mmol. d'acide arachidonique comme indicateur.

La figure 11 montre les résultats obtenus ;
20 on voit que bien que la suppression de l'agrégation des plaquettes soit constatée dans une certaine mesure pour le témoin au bout de 5 minutes après l'addition d'acide arachidonique comme précurseur des PGs, on constate une suppression remarquable dans le groupe
25 traité, indiquant l'augmentation de la productivité de PGI₂ par addition de la substance de l'invention.

EXEMPLE 8 :

Effet de la substance de l'invention sur le métabolisme de l'AMP cyclique et du monophosphate de
30 guanosine cyclique chez une souris porteuse de cancer :

Des cellules cancéreuses d'Ehrlich ont été transplantées dans la cavité abdominale de souris femelles ICR/JCL cinq semaines après leur naissance à raison de 1×10^6 cellules/animal, et tout en alimentant les souris, on a administré par voie intrapéritonéale la substance de l'invention, échantillon n° 7, aux souris chaque jour

à partir du jour suivant la transplantation, pendant cinq jours, à raison de 200 mg/kg/jour. Le sixième jour, les souris ont été sacrifiées avec de l'éther pour recueillir sur chacune 5 ml des ascites. Après
5 avoir ajouté de l'éthylènediaminetétraacétate tétrasodique dans les ascites ainsi recueillis, on a centrifugé le mélange pendant 10 mn à 4°C et 1500 tours/mn pour séparer les liquides surnageants et les cellules
10 cancéreuses. Les liquides surnageants ont été à nouveau centrifugés à 4°C et 3000 tours/mn pendant 15 mn. Les cellules cancéreuses séparées ont été lavées avec une solution de Hank, puis soumises 5 fois à des centrifugations répétées à 800 tours/mn pendant 5 mn à chaque fois pour éliminer des impuretés telles que des érythrocytes,
15 etc. Après avoir homogénéisé 1×10^8 cellules du cancer dans 3 ml d'une solution aqueuse à 6 % d'acide trichloracétique à la température de 0°C, on a centrifugé l'homogénéisat pendant 20 minutes à 3000 x G pour obtenir un extrait liquide. On a ajouté 10 % en poids d'une
20 solution aqueuse 1N d'acide chlorhydrique à l'extrait liquide, puis on l'a extrait cinq fois avec à chaque fois 2 volumes d'éther pour éliminer l'acide trichloracétique. Après élimination complète de l'éther en chauffant le liquide résiduel au bain marie à 80°C,
25 on a lyophilisé le résidu.

Au liquide surnageant des ascites, on a ajouté une quantité égale d'une solution aqueuse à 10 % d'acide trichloracétique, et, après l'avoir laissé pendant 15 minutes à la température de 0°C, on l'a
30 centrifugée pendant 20 minutes à 3000 x G pour obtenir un liquide surnageant. Au liquide surnageant ainsi obtenu, on a ajouté 0,1 ml d'une solution aqueuse 1N d'acide chlorhydrique, et après avoir éliminé l'acide trichloracétique par deux volumes d'éther, on a éliminé
35 complètement l'éther au bain marie à 80°C, et on a lyophilisé le résidu.

Les échantillons lyophilisés provenant respectivement des cellules cancéreuses et du liquide surnageant des ascites ont été respectivement dissous dans un 1 ml d'une solution tampon aqueuse à pH 4,0

5 contenant 50 mmol d'acide acétique et soumis à l'essai radio-immunologique en utilisant de l'anti-corps anti-AMP cyclique et de l'anti-corps anti-monophosphate de guanosine cyclique (GMP) pour déterminer l'AMP cyclique et la GMP cyclique respectivement dans

10 les cellules cancéreuses et les liquides surnageants des ascites. Le tableau 5A donne les résultats obtenus. L'augmentation des teneurs en AMP cyclique et en GMP cyclique dans les cellules cancéreuses a été constatée, les cellules cancéreuses provenant d'un rat auquel

15 la substance de l'invention avait été administrée. Ce fait montre l'influence de la substance de l'invention sur le métabolisme in vivo de l'AMP cyclique et de la GMP cyclique dans les cellules cancéreuses provenant des cellules cancéreuses transplantées dans le corps

20 de la souris.

TABLEAU 5A

Taux d'AMP cyclique et de GMP cyclique

Unité : pM

25	Groupe	AMP cyclique pour 10^8 cellules cancéreuses	GMP cyclique pour 10^8 cellules cancéreuses
30	Témoin	19,5	0,59
	Substance de l'invention	21,2	0,72

EXEMPLE 9 :

Effet de la substance de l'invention sur la quantité de PGs dans un milieu de culture dans lequel sont cultivées des cellules de la leucémie humaine :

5 A 10 ml. à chaque fois d'un milieu de culture préparé en ajoutant 10 % de sérum de foetus de bovin et un de la substance de l'invention, échantillon n° 7, à une concentration de 50, 500 ou 5000 µg/ml à un milieu de culture d'Eagle, et on les place dans un flacon
10 de polystyrène de 75 cm² de surface de fond, on inocule 5 x 10⁵ cellules cultivées de la leucémie dinucléaire humaine souche J-111, et on les cultive à 37°C dans une atmosphère mixte de 5 % en volume d'oxyde de carbone gazeux et de 95 % en volume d'air pendant 7 jours. Au
15 cours de la culture, on remplace le milieu de culture le second jour et le quatrième jour avec des milieux frais, et on soumet chacun des milieux usés à une centrifugation dès que possible à une température de 4°C à 1500 tours/mn pour obtenir chaque liquide surnageant du milieu de culture. La teneur en PGE et en
20 PGF_{2-α} dans chaque liquide surnageant est déterminée au moyen d'un nécessaire d'essai radio-immunologique de la ³H-prostaglandine E et d'un nécessaire d'essai radio-immunologique de la ³H-prostaglandine F (fabriqués
25 par la Clinical Assay Co. U.S.A.).

Les résultats sont donnés sur les figures 12 et 13. Comme le montre la figure 12, la quantité cumulée de PGF_{2-α} augmente avec le temps et la figure 13 montre que la quantité cumulée de PGE diminue avec le
30 temps, d'une manière générale. Cependant, la vitesse d'augmentation de la PGF_{2-α} diminue lorsque la concentration de la substance de l'invention augmente, et la vitesse de diminution de la PGE augmente lorsque la concentration de la substance de l'invention augmente. En tout
35 cas, la participation de la substance de l'invention au métabolisme des PGs ressort des figures 12 et 13.

EXEMPLE 10 :

Effet de la substance de l'invention sur la quantité de PGs dans un milieu de culture dans lequel sont cultivées des cellules cancéreuses utérines

5 humaines :

A 10 ml d'un milieu de culture préparé en ajoutant 10 % de sérum de fœtus de bovin et un de la présente substance, échantillon n° 7, à une concentration de 0 (témoin), 10, 100, 500, 1000, ou 5000 µg/ 10 ml à un milieu de culture d'Eagle et placé dans un flacon de polystyrène dont le fond a une surface de 75 cm², on inocule des cellules cultivées HeLa S3 de cancer d'utérus humain à raison de 5 x 10⁵ cellules/ 15 une atmosphère mixte de 5 % en volume d'oxyde de carbone gazeux et de 95 % en volume d'air. Lorsque l'incubation est terminée, on centrifuge la totalité du milieu de culture à la température de 4°C à 1500 20 tours/minute pour obtenir un liquide surnageant du milieu de culture. La teneur en PGE du liquide surnageant est déterminée au moyen du nécessaire d'essai radio-immunologique de la ³H-prostaglandine E. Les résultats sont donnés dans le tableau 6.

Comme le montre le tableau 6, la quantité 25 de PGE dans le milieu de culture (sans cellules cancéreuses) est réduite par l'addition de la substance de l'invention. Ce fait montre l'effet de la substance de l'invention sur le métabolisme des PGs.

TABLEAU 6

Teneur en PGE dans le milieu de culture (sans cellules)

5	Concentration de la substance de l'invention ($\mu\text{g/ml}$)	Concentration de la PGE après culture (pg/ml)	Variation de la concentration de la PGE au cours de la culture (pg/ml)
	0	312	+120
	10	40	-152
10	100	80	-112
	500	48	-144
	1000	25	-167
	5000	25	-167

15 EXEMPLE 11

Effet de la substance de l'invention sur la PGE dans les cellules cancéreuses et dans les ascites de souris transplantées avec des cellules cancéreuses d'Ehrlich :

20 A des groupes de souris femelles ICR-JCL à cinq semaines de leur naissance, on transplante intrapéritonéalement des cellules cancéreuses d'Ehrlich à raison de 1×10^6 cellules/animal, et on administre une des présentes substances, échantillon n° 7, par voie
 25 intrapéritonéale aux souris chaque jour, à partir du jour suivant la transplantation pendant cinq jours, à raison de 200 mg/kg/jour. On sacrifie les souris avec de l'éther au sixième jour après la transplantation, et on recueille les ascites. Après addition d'éthylène-
 30 diaminetétracétate tétrasodique avec 1 % en poids d'aspirine aux ascites, on centrifuge pendant 10 mn à 1500 tours/minute et à une température de 4°C pour séparer les cellules cancéreuses du liquide surnageant. Le liquide surnageant est à nouveau centrifugé à 4°C
 35 et 3000 tours/minute pendant 15 minutes. Les cellules

cancéreuses séparées sont lavées avec une solution de Hank, et sont soumises à une centrifugation cinq fois à 800 tours/minute pendant 5 minutes à chaque fois, pour éliminer les impuretés telles qu'érythrocytes, etc. Les cellules cancéreuses ainsi purifiées, au nombre de 1×10^8 , sont homogénéisées à 0°C après addition de 7 ml de méthanol, et l'homogénéisat est filtré sur du papier filtre. Après addition de 14 ml de chloroforme au filtrat, et mélange, on laisse le mélange pendant 30 minutes à une température de 4°C. Puis on élimine la protéine précipitée par succion-filtration, et on évapore à sec le filtrat ainsi obtenu dans un évaporateur rotatif. On place la matière solide séchée dans une ampoule de décantation, avec du chloroforme, du méthanol et une solution aqueuse diluée d'acide chlorhydrique à pH 2, et après l'avoir soigneusement mélangée, on la dissout dans la couche aqueuse inférieure d'une solution de 2 ml. La teneur en PGE de la solution et du liquide surnageant des ascites est déterminée au moyen d'un nécessaire d'essai radio-immunologique de la ^3H -prostaglandine E. Le tableau 7 donne les résultats obtenus. Dans l'animal auquel on a transplanté des cellules cancéreuses et administré la substance de l'invention, la PGE est contenue en quantité plus importante dans les cellules cancéreuses et en quantité moins importante dans le liquide surnageant des ascites par rapport aux animaux auxquels on a transplanté les mêmes cellules cancéreuses, mais non administré la substance de l'invention. Ce fait suggère fortement une relation entre l'administration de la présente substance et le métabolisme des PGs.

TABLEAU 7

Teneur en PGE dans les cellules cancéreuses et dans les ascites (liquide surnageant)

5	Groupe	Teneur en PGE dans 10^8 cellules (ng)	Teneur en PGE dans le liquide surnageant des ascites (ng)
	Témoin	2,36	0,26
10	Substance de l'invention	3,06	0,12

EXEMPLE 12 :

Effet de la substance de l'invention sur la quantité de PGE dans les cellules cancéreuses d'Ehrlich et sur la prolifération des tumeurs :

Des cellules cancéreuses d'Ehrlich sont transplantées par voie sous-cutanée à des groupes de souris C57BL/6 femelles neuf semaines après leur naissance à raison de 1×10^6 et, tout en nourrissant les souris, on administre par voie intrapéritonéale la substance, échantillon n° 7, aux souris chaque jour après le jour suivant la transplantation, à raison de 100 mg/kg. Au quatorzième jour après la transplantation, on sacrifie les souris avec de l'éther pour extirper le tissu tumoral. Après avoir homogénéisé le tissu tumoral finement découpé avec des ciseaux, en ajoutant 7 ml de méthanol par gramme de tissu tumoral, à une température de 0 °C, on filtre l'homogénéisat avec du papier filtre, ce qui fournit un filtrat. Après avoir ajouté deux volumes de chloroforme au filtrat, on mélange intimement le mélange et on le laisse pendant 30 minutes à 4°C. Puis on soumet le mélange refroidi aux mêmes opérations qu'à l'exemple 11 pour déterminer la teneur en PGE dans le tissu tumoral. Le tableau 8 montre les résultats obtenus. La teneur en PGE dans le tissu tumoral est plus élevée dans l'animal auquel on a transplanté des cellules cancéreuses et administré la

substance de l'invention que dans le témoin auquel on a transplanté les mêmes cellules cancéreuses mais non administré la substance de l'invention. Ce fait donne des renseignements sur la participation de la substance de l'invention au métabolisme des PGE.

TABLEAU 8

Teneur en PGE dans le tissu tumoral

Groupe	Poids du tissu tumoral (g)	Teneur en PGE dans le tissu tumoral (ng/g)
Témoin	1,30	1,77
Ayant reçu le composé de l'invention	0,75	3,98

EXEMPLE 13 :

Répétition de l'expérience de l'exemple 12 dans des conditions légèrement différentes.

On transplante des cellules cancéreuses d'Erlich par voie sous-cutanée à des groupes de souris femelles C57BL/6 huit semaines après leur naissance et, tout en nourrissant les souris, on administre par voie orale la substance de l'invention, échantillon n° 7, à chaque souris, chaque jour, à raison de 1 g/kg/jour. Le septième ou le quatorzième jour après la transplantation, on sacrifie les souris à l'éther pour extirper la tumeur. On traite la tumeur suivant le même mode opératoire qu'à l'exemple 11 pour déterminer sa teneur en PGE. Le tableau 9 donne les résultats obtenus. La concentration en PGE dans la tumeur est plus élevée dans l'animal auquel on a transplanté des cellules et administré la substance de l'invention que dans le témoin auquel on a transplanté les mêmes cellules mais non administré la substance de l'invention. De plus, on observe que la teneur en PGE diminue dans les deux groupes avec le temps, et que le taux de diminution

est plus faible dans le groupe ayant reçu la transplantation et l'administration de substance de l'invention que dans le groupe témoin ayant reçu la transplantation mais non l'administration de la substance de l'invention.

- 5 Ces faits montrent que la substance de l'invention participe au métabolisme de la PGE.

TABLEAU 9

Teneur en PGE dans la tumeur

10	Groupe	Date de l'extirpation après transplantation	Poids de la tumeur (g)	Teneur en PGE dans la tumeur (ng/g)
	Témoin	7ème jour	0,09	2,59
		14ème jour	0,84	1,16
15	Ayant reçu la substance de l'invention	7ème jour	0,08	2,80
		14ème jour	0,67	1,65

EXEMPLE 14 :

- Effet de la substance de l'invention sur la
 20 teneur en PGE de la tumeur de l'adénocarcinome 755
 et sur sa prolifération :

On transplante par voie sous-cutanée des
 cellules tumorales d'adénocarcinome 755 à des groupes
 de souris femelles C57BL/6 à 8 jours de leur naissance
 25 et, tout en nourrissant les souris, on leur administre
 par voie orale, chaque jour à partir du jour suivant
 la transplantation, la substance de l'invention, échan-
 tillon n° 7, à raison de 1g/kg/jour. On sacrifie les
 souris avec de l'éther au sixième ou au quatorzième
 30 jour après la transplantation pour extirper la tumeur.
 On traite la tumeur ainsi extirpée suivant le même
 mode opératoire qu'à l'exemple 11 pour en déterminer
 sa teneur en PGE. Le tableau 10 donne les résultats
 obtenus. Comme on le voit, la teneur en PGE dans la
 35 tumeur diminue avec le temps dans les deux groupes
 dont l'un a reçu la transplantation et l'administration

et l'autre a reçu la transplantation mais non l'administration, et la teneur en PGE est par conséquent plus élevée dans le groupe ayant reçu l'administration du composé de l'invention que dans le témoin. Ces
5 faits montrent la participation du composé de l'invention au métabolisme des prostaglandines.

TABLEAU 10

Teneur en PGE de la tumeur

10	Groupe	Date de l'extirpation après transplantation	Poids de la tumeur (g)	Teneur en PGE dans la tumeur (ng/g)
	Témoin	7ème jour	1,34	0,67
		14ème jour	4,01	0,34
15	Ayant reçu la substance de l'invention	7ème jour	1,04	2,83
		14ème jour	3,10	1,15

EXEMPLE 15 :

20 Effet de la substance de l'invention sur la migration d'un colorant de la région d'injection vers la tumeur transplantée :

Sur le dos d'un rat donryu, on transplante un morceau de cancer du poumon de Sato de 5 mm par
25 voie sous-cutanée.

Sur la partie axillaire d'une souris ICR, on transplante par voie sous-cutanée 10^6 cellules de sarcome 180. Tout en nourrissant les deux animaux, on administre de force par voie orale la substance
30 de l'invention, échantillon n° 7, une seule fois à raison de 1000 mg/kg au seizième jour après la transplantation, et on injecte une solution aqueuse à 2 % de vert de Lissamine (colorant fabriqué par Imperial Chem. Ind. Co.) dans la veine caudale de l'animal à
35 raison de 1 ml pour un rat et de 0,5 ml pour une souris.

Une heure après l'injection, on sacrifie l'animal pour extirper la tumeur ayant proliféré. On découpe finement la tumeur du rat et l'homogénéise avec une solution aqueuse à 50 % d'éthanol. Après avoir dilué l'homogénéisat par addition de la solution à un volume total de 50 ml, on centrifuge le liquide pendant 15 minutes à 1000 tours/minute pour séparer le liquide surnageant. On détermine la teneur en colorant du liquide surnageant lui-même ou après dilution par spectrophotométrie en utilisant son maximum d'absorption de 630 nm. En ce qui concerne la tumeur de la souris, on la découpe et on observe la présence de colorant à l'oeil nu sur la section transversale de la tumeur.

La quantité de colorant ayant sédimenté dans le cancer du poumon de Sato par gramme du cancer est indiqué dans le tableau 11.

TABLEAU 11

Groupe	Quantité de colorant ($\mu\text{g/g}$ de tumeur)
Témoin	30,0
Ayant reçu la substance de l'invention	51,0

L'examen visuel montre la remarquable sédimentation du colorant dans la partie centrale de la tumeur dans le cas du sarcome 180 chez la souris ayant reçu l'administration de la substance de l'invention. Ces résultats montrent que la substance de l'invention facilite l'accès d'un médicament anti-cancéreux à une tumeur et suggère la participation de la substance de l'invention au métabolisme de la PGE.

EXEMPLE 16 :

Effet de la substance de l'invention pour prévenir la métastase d'une tumeur transplantée :

On transplante des cellules de tumeur MH-134 à une souris $C_3\text{H}/\text{He}$ par sa veine caudale à raison de

2 x 10⁶ cellules/animal. On administre de force par voie orale la substance de l'invention, échantillon n° 7, à la souris, respectivement 6, 3 et 1 heure avant et 1,3 et 6 heures après la transplantation, en une
5 fois à raison de 1000 mg/kg.

On sacrifie la souris au quatorzième jour à partir de la transplantation pour extirper les poumons afin d'examiner le nombre des lésions métastatiques. Le tableau 2 donne le taux de métastases positives
10 et le nombre de liaisons métastatiques.

TABLEAU 12

Groupe	Taux de métastases positives (%)	Nombre de liaisons métastatiques
15	Ayant reçu l'administration	
	6 heures avant	10/10 (100 %)
	3 heures avant	8/9 (88,9%)
20	1 heure avant	7/9 (77,8%)
	1 heure après	7/10 (70%)
	3 heures après	9/10 (90%)
	6 heures après	10/10 (100%)
25	N'ayant pas reçu l'administration	6/6 (100%)

Comme on dispose de plusieurs informations concernant la participation des PGs, en particulier
30 de la PGD₂ sur la métastase d'une tumeur transplantée, les résultats ci-dessus sont considérés comme suggérant un effet inhibiteur de la substance de l'invention sur la métastase d'une tumeur implantée par l'intermédiaire des PGs.

EXEMPLE 17 :

Variation du taux de PGs dans le sang de l'animal auquel on a administré la substance de l'invention :

5 On transplante des cellules de sarcome induit par le méthylcholanthrène sur le dos d'un groupe de rats spontanément hypertensifs (SHR) par voie sous-cutanée à raison de 1×10^6 cellules/animal et, tout en alimentant les rats, on leur administre quotidiennement la
10 substance de l'invention, échantillon n° 7, par voie intrapéritonéale pendant 6 jours consécutifs à partir du jour suivant la transplantation, à raison de 500 mg/kg/jour. Deux semaines après la fin de l'administration, on recueille le sang entier pour obtenir une fraction de plasma. On sépare l'extrait éthéré du plasma par
15 chromatographie sur couche mince et après avoir transformé l'extrait en un dérivé méthoxy-mésilylé, on examine la variation du taux de 6-céto-PGF_{1 α} dans l'extrait par chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie de masse. La figure 14 donne les résultats
20 obtenus.

On voit que, bien qu'en général le taux de 6-céto-PGF₁ dans le sang du rat infecté par un cancer soit plus élevé que celui dans le sang d'un rat à l'état normal, le taux dans le rat portant un cancer ayant
25 reçu une administration de la substance de l'invention est presque le même que sur le rat normal. On présume que la substance de l'invention a ramené le taux augmenté à sa valeur normale.

EXEMPLE 18 :

30 Effet de la substance de l'invention sur la prolifération du cancer et sur la quantité de PGE dans les cellules cancéreuses :

Par le même procédé qu'à l'exemple 12, on a étudié l'action anti-cancéreuse contre le cancer
35 d'Ehrlich transplanté chez la souris C57BL/6, et la

quantité de PGE dans les cellules cancéreuses en cours de prolifération dans l'organisme de la souris, dans le cas de l'administration de chacun des composés de l'invention, échantillons n° 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10 et 11, par voie intrapéritonéale tous les deux jours à partir du jour suivant la transplantation au total six fois à la dose de 100 mg/kg.

Les résultats de la détermination du poids du cancer extirpé de la souris sacrifiée quatorze jours après la transplantation de cellules cancéreuses, 1×10^6 par animal, et la teneur en PGE du cancer extirpé sont indiqués dans le tableau 13 ci-dessous :

TABLEAU 13

Poids du cancer (g) et teneur en PGE du cancer (ng/g)

Composé	Poids du cancer (g)	Teneur en PGE du cancer (ng/g)
Témoin ¹⁾	1,30	1,77
Echantillon n° 1	0,63	4,10
2	0,81	3,88
3	0,74	4,23
4	0,56	4,19
5	0,70	3,20
6	0,65	3,66
7 ²⁾	0,75	3,98
8	0,72	4,03
9	0,80	4,32
10	0,70	4,14
11	0,69	4,20

Notes :

1) animaux ayant reçu la transplantation, mais non l'administration.

2) résultats de l'exemple 12.

Comme le montre le tableau, bien qu'il y ait certaines différences entre les composés, ils inhibent tous efficacement la croissance du cancer et élèvent tous efficacement la teneur en PGE des cellules cancéreuses.

EXEMPLE 19 :

Effet de l'aspirine sur l'action hypotensive de la substance de l'invention :

Il est connu que les PGs sont formées à partir de l'acide arachidonique et que la conversion de l'acide arachidonique en PGG_2 passe par l'intermédiaire de la cyclooxygénase. Il est également connu que l'aspirine inactive la cyclooxygénase, et que le métabolisme des PGs est complètement stoppé par administration d'aspirine à un mammifère.

C'est pourquoi on a effectué l'expérience suivante : à des groupes de rats mâles SHR de 30 à 40 semaines, (a) on a administré de force par voie orale une des substances de l'invention à raison de 100 mg/kg sous forme de solution dans l'eau distillée ou de suspension aqueuse dans une solution à 2% de carboxyméthylcellulose, ou (b) on a administré de force par voie orale de l'aspirine, une heure avant et une heure après l'administration de la substance de l'invention, à raison de 200 mg/kg. La pression sanguine des rats ainsi traités a été mesurée en fonction du temps. Les résultats sont donnés dans le tableau 14.

Comme le montre le tableau 14, par administration de l'inhibiteur du métabolisme des PGs, l'aspirine, l'effet hypotenseur de la substance de l'invention (échantillons n° 4, 7 et 8) qui apparaissait dans le groupe (a) n'est pas apparu dans le groupe (b). Les résultats montrent que l'effet hypotenseur de la substance de l'invention est dû aux PGs.

TABLEAU 14
Effet hypotenseur inhibé par
l'aspirine

Composé	Modification de la pression sanguine (mmHg) ¹⁾	
	Cas (a)	Cas (b)
Témoin ²⁾	0	0
Echantillon N° 4	- 20	- 5
N° 7	- 20	0
N° 8	- 15	0

Notes : 1) 6 heures après l'administration de la substance de l'invention.

2) On n'a administré que de l'eau distillée en même temps que l'administration de l'aspirine et de la substance de l'invention.

EXEMPLE 20 :

Effet de la substance de l'invention sur le taux de PGs dans le sang d'un rat spontanément hypertensif (SHR) :

Après avoir administré de force la substance de l'invention (échantillons n° 4, 7 et 8) tous les jours pendant 14 jours consécutifs à raison de 100 mg/kg/jour par voie orale à des groupes de rats mâles SHR, on a recueilli leur sang total le quinzième jour pour obtenir la fraction plasmatique. L'extrait étheré de la fraction plasmatique a été séparé et isolé par chromatographie sur couche mince, et après avoir transformé la fraction isolée en dérivé méthyloxymésilylé, on a étudié l'altération de la 6-céto-PGF_{1-α} par chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie de masse. Les résultats sont donnés dans le tableau 15. Dans le groupe auquel la substance de l'invention a été administrée, la teneur en 6-céto-PGF_{1-α} était plus élevée

et la pression sanguine plus faible que dans le témoin. Ce parallélisme des effets conduit à supposer que l'effet de la présente invention passe par l'intermédiaire des prostaglandines.

5

TABLEAU 15

Pression sanguine et teneur en PGs du sang recueilli 14 jours après l'administration de la substance de l'invention (échantillons N° 4, 7 et 8)

	Témoin	Echantil- lon n° 4	Echantil- lon n° 7	Echantil- lon n° 8
10 Pression du sang (mmHg)	195	155	160	150
15 Teneur du sang en 6-céto-PGF _{1-α} (ng/ml)	3	7	6,5	7

EXEMPLE 21 :

Effet de la substance de l'invention sur la production de PGI₂ chez un rat souffrant de diabète sucré :

On a utilisé pour ces expériences des groupes de rats Sprague-Dowley mâles d'un poids corporel d'environ 200 g. A certains groupes de rats, on a administré par voie intraveineuse de la streptozotocine, à raison de 80 mg/kg un à trois mois avant le début de la présente expérience de façon à ce qu'ils se trouvent dans un état de diabète sucré. On a utilisé comme témoins des rats de la même souche, du même sexe et du même âge et qui n'ont pas reçu d'administration de streptozotocine.

Les substances de l'invention (échantillons N° 4, 7 et 8) ont été administrées de force à des groupes de rats souffrant du diabète sucré artificiel par voie orale, à raison de 100 mg/kg sous forme de solution aqueuse dans de l'eau distillée.

Six heures après l'administration de la substance de l'invention, on a prélevé un échantillon de sang sur le rat sous anesthésie à l'éther, à raison de 0,5 ml/animal, et on a mesuré la teneur en sucre
5 du sang par la méthode enzymatique.

On a ensuite mesuré la quantité de prostaglandine I_2 produite dans le tissu artériel de la façon suivante :

On a rapidement extirpé l'aorte thoracique
10 du rat, on l'a lavée avec une solution tampon de Krebs à une température de 4°C et on l'a découpée en anneaux minces de 1 à 2 mg. Puis, dans 200 microlitres de solution tampon de Krebs, on a introduit 60 mg de l'aorte ainsi découpée et on a fait incubé
15 le mélange pendant 3 minutes à 22°C.

La quantité de prostaglandine I_2 (PGI_2) produite par l'aorte découpée a été déterminée dans le liquide surnageant (1 à 10 microlitres) de la culture incubée ci-dessus de la même manière qu'à
20 l'exemple 2, en utilisant comme indice l'action suppressive de l'agrégation des plaquettes, mais en utilisant comme agent agglutinant du diphosphate d'adénosine. Après avoir préparé une courbe d'étalonnage au moyen d'un échantillon authentique de PGI_2 ,
25 on a déterminé la teneur en PGI_2 du liquide surnageant ci-dessus, à partir de la courbe d'étalonnage en ng/mg du poids humide du tissu artériel. Le tableau 16 donne les résultats obtenus.

TABLEAU 16
Quantité de PGI₂ et de sucre dans le sang

5	Groupe de rats	PGI ₂ (ng/mg de tissu humide)	Sucre dans le sang (mg/100 ml)
	Rat normal	0,26 ± 0,06	76,7 ± 5,0
10	Rats atteints de diabète sucré artificiel		
	Non traités par la substance de l'in- vention	0,07 ± 0,01	412,1 ± 15,1
15	Traités par l'é- chantillon n° 4	0,19 ± 0,04	133,6 ± 8,3
	Traités par l'é- chantillon n° 7	0,22 ± 0,02	165,0 ± 11,0
	Traités par l'é- chantillon n° 8	0,18 ± 0,04	110,1 ± 5,5

20

Bien que la production de PGI₂ dans le tissu aortique du rat amené artificiellement dans un état de diabète sucré soit inférieure à celle du rat normal, l'administration de la substance de l'invention à un rat amené artificiellement dans un état de diabète sucré augmente la capacité du tissu de produire de la PGI₂ tout en réduisant le taux de sucre dans le sang.

EXEMPLE 22 :

Autre exemple montrant l'effet de la substance de l'invention sur la production de PGI₂ :

Après avoir extrait l'aorte cervicale d'un rat SD sous anesthésie, on l'a lavée avec une solution tampon au bicarbonate de Krebs-Linger et on l'a découpée en anneaux minces, et les morceaux découpés ont été conservés dans la solution tampon ci-dessus à raison de 1 mg de morceaux découpés humides pour 0,5 ml pour produire de la PGI₂.

35

A 500 microlitres du mélange ainsi préparé, on a ajouté 50 microlitres d'une solution de sérum physiologique contenant en dissolution 2% en poids de la substance de l'invention (chacun des échantillons n° 4, 7 et 8) et, comme le production de PGI₂ atteint généralement un maximum au bout de 10 minutes de conservation, on a préparé un liquide surnageant (2,5 µl) du mélange 10 minutes après l'addition, puis on a déterminé la quantité de PGI₂ dans le liquide surnageant en utilisant l'action suppressive de l'agrégation des plaquettes comme indice et en utilisant de l'ADP comme agent agglutinant, le témoin étant une simple solution de sérum physiologique. La figure 15 donne les résultats obtenus. L'addition de la substance de l'invention augmente la production de PGI₂ par les morceaux découpés de l'aorte cervicale.

En outre, bien que diverses études aient été effectuées sur la cause de l'artériosclérose, l'agglutination des morceaux agrégés de la paroi des vaisseaux est indiquée comme une cause présentant une importance particulière. En d'autres termes, la prévention de l'agglutination des plaquettes sur la paroi des vaisseaux est le premier traitement. Il est connu que la PGI₂ présente un effet inhibiteur prononcé sur l'agglutination des plaquettes, de sorte que la substance de l'invention qui augmente la possibilité de production de PGI₂ sur la paroi aortique a un effet de traitement et un effet de prévention de l'artériosclérose.

30 EXEMPLE 23 :

Effet élévateur de la substance de l'invention sur le taux de PGE₁ dans l'organisme des mammifères :

(1) Dans le cas d'un oedème du pied artificiel :

A trois groupes de rats Sprague-Dowley mâles sur un total de six groupes, on a administré de force par voie orale, les substances de l'invention, échan-

tillons n° 4, 7 et 8, à raison de 1000 mg/kg, les trois autres groupes de la même espèce de rats ne recevant rien à ce moment.

Soixante minutes après l'administration, on a injecté 0,1 ml d'une solution aqueuse de carragénine (1 mg) et de PGE₁ (0,1 µg) dans les pattes arrière des quatre groupes de rats y compris les trois groupes ayant reçu la substance de l'invention. A un des deux groupes restants non traités par la substance de l'invention, on a injecté 0,1 ml d'une solution aqueuse ne contenant que de la carragénine à 1 %, et à l'autre groupe n'ayant pas reçu la substance de l'invention, une solution aqueuse ne contenant que de la PGE₁.

Le volume du pied ainsi gonflé des groupes de rats ainsi traités a été mesuré par la méthode de déplacement d'eau, et les résultats sont donnés dans le tableau 17, exprimés par l'augmentation du pourcentage du volume du pied par rapport au volume du pied avant le traitement.

(2) Dans le cas d'une stimulation de la peau :

Aux trois groupes de rats Sprague-Dowley mâles sur le total de 6 groupes, les substances de l'invention, échantillons n° 4, 7 et 8, ont été administrées de force par voie orale à raison de 1000 mg/kg, les trois autres groupes ne recevant rien à ce moment. Soixante minutes après l'administration, on a injecté par voie intracutanée un mélange de PGE (2,5 x 10⁻¹¹ mol./animal) et d'histamine (2 x 10⁻⁸ mol./animal) sous une légère anesthésie à l'éther dans la peau rasée d'une partie abdominale de quatre groupes de rats comprenant trois groupes ayant reçu la substance de l'invention. A un groupe des deux groupes restant intacts, on a injecté seulement de l'histamine à raison de 2 x 10⁻⁸ mol./animal et à l'autre groupe seulement de la PGE, à raison de 2,5 x 10⁻¹¹ mol./animal.

Aussitôt après l'injection ci-dessus, on a injecté du bleu Evans sous forme d'une solution aqueuse dans une solution de sérum physiologique, dans la veine latérale de la queue de tous les rats expérimentaux à raison de 2 ml/kg correspondant à 25 mg de bleu Evans/kg. Tous les animaux ont été sacrifiés 30 minutes après l'injection du colorant, et l'étendue de la fuite du colorant a été étudiée spectrophotométriquement par la méthode de Harada et al. en utilisant comme indice l'absorbance à 620 nm.

Les résultats sont donnés dans le tableau 18.

TABLEAU 17

Effet de la substance de l'invention sur le gonflement induit par la carragénine

Groupes de rats traités par	Augmentation en pourcentage du volume du pied 60 mn après l'administration de la carragénine
Carragénine	37,0
PGE ₁	9,3
Carragénine + PGE ₁	66,2
Echantillon n° 4 + carragénine + PGE ₁	32,5
Echantillon n° 7 + carragénine + PGE ₁	28,2
Echantillon n° 8 + carragénine + PGE ₁	29,7

TABLEAU 18

Effet de la substance de l'invention sur la fuite du colorant.

5	Groupe de rats traités par	Absorbance à 620 nm
	Histamine	0,192
	PGE ₁	0,066
	Histamine + PGE ₁	0,259
10	Echantillon n° 4 + histamine + PGE ₁	0,155
	Echantillon n° 7 + histamine + PGE ₁	0,152
	Echantillon n° 8 + histamine + PGE ₁	0,162
15		

Les résultats figurant dans le tableau 17 indiquent que l'inflammation provoquée par la carragénine et renforcée par la PGE₁ est inhibée par l'action de la substance de l'invention.

20 Les résultats du tableau 18 indiquent que la fuite de colorant due à l'histamine et renforcée par la PGE₁ est inhibée.

EXEMPLE 24 :

Effet diurétique de la substance de l'invention en fonction du taux de 6-céto-PGF_{1α} dans le sang de rats.

Des groupes de rats femelles (SHR) spontanément hypertensifs maintenus à jeûn pendant 12 heures et privés d'eau pendant 2 heures ont été traités par administration orale forcée de la substance de l'invention (chacun des échantillons n° 4, 7 et 8), aux taux respectifs de 1 et 5g/kg dissous dans 8 ml (pour 200 g en poids) d'une solution aqueuse de sérum physiologique, le groupe témoin recevant seulement la solution aqueuse de sérum physiologique à raison de 8 ml/200 g en poids.

La quantité d'urine excrétée par les rats a été mesurée toutes les heures à partir d'une heure après l'administration, six fois consécutives, et les pourcentages du volume de l'urine au volume de la solution du sérum physiologique contenant la substance de l'invention initialement administrée (8 ml. pour 200 g en poids) sont donnés dans le tableau 19.

Ensuite, six heures après l'administration, tous les animaux ont été sacrifiés pour recueillir leur sang total afin d'obtenir sa fraction plasmatique. L'extrait éthéré de la fraction plasmatique a été séparé par chromatographie sur couche mince et, après avoir transformé les substances ainsi séparées en dérivés méthylxymésilylés, on a étudié la variation de la 6-céto-PGF_{1α} par chromatographie en phase gazeuse-spectrographie de masse. Les résultats sont également donnés dans le tableau 19.

Comme le montre le tableau 19, la quantité d'urine, après conversion à la valeur normale de récupération, était plus grande chez les rats ayant reçu la substance de l'invention que chez les témoins, et une relation dose-effet a été constatée à propos de la quantité d'urine parmi les rats ayant reçu la substance de l'invention. En d'autres termes, un effet diurétique a été constaté pour la substance de l'invention.

En outre, le taux de 6-céto-PGF_{1α} dans le sang des rats ayant reçu la substance de l'invention est un peu plus élevé que pour le témoin, bien que la différence soit très faible. Bien qu'il soit naturel que l'augmentation de la 6-céto-PGF_{1α}, qui est le métabolite de PGI₂, ait pour résultat une augmentation du taux de PGI₂, comme la fonction diurétique est reconnue comme une des fonctions physiologiques de PGI₂, il est à supposer que la substance de l'invention doit son effet diurétique à la régulation de PGI₂.

TABLEAU 19

Quantité d'urine et taux de 6-céto-PGF_{1α} dans le sang

5	Groupes	Volume d'urine ¹⁾ %						Taux de 6-céto-PGF _{1α} dans le sang (ng/ml)
		1	2	3	4	5	6	
	Témoin	2	9	22	26	28	30	3,0
	Substance de l'invention							
10	Echantillon N° 4							
	5 g/kg	7	40	50	52	78	91	3,5
	1 g/kg	6	40	46	50	60	63	3,3
	Echantillon N° 7							
15	5 g/kg	5	50	66	80	92	100	3,9
	1 g/kg	4	38	45	48	63	72	3,5
	Echantillon N° 8							
	5 g/kg	5	43	60	70	77	93	3,7
20	1 g/kg	5	39	47	50	65	68	3,2

Note : 1) Pourcentage volumique d'urine accumulée au moment de la détermination par rapport au volume de solution de sérum physiologique contenant la substance de l'invention administré.

EXEMPLE 25 :

Effets de la substance de l'invention sur le seuil de la douleur causée par injections répétées de

30 PGE₂ :

A un groupe de rats mâles Wistar d'un poids corporel de 230 à 250 g, on a injecté quotidiennement pendant 2 semaines, dans les deux pattes, 2 µg de PGE₂ dissous dans 0,1 ml d'une solution aqueuse stérilisée à 0,9 % de chlorure de sodium. Au sixième jour,

la substance de l'invention (chacun des échantillons n° 4, 7 et 8) a été administrée de force par voie orale à raison de 1000 mg/kg.

Le "seuil de douleur" a été mesuré une
5 heure après l'administration de la substance de l'invention. L'expression "seuil de douleur" désigne la pression minima appliquée à la patte du rat provoquant l'angoisse chez le rat. Les résultats sont donnés dans la figure 16.

10 Comme le montre la figure 16, la réduction du "seuil de douleur" provoquée par l'injection de PGE₂ est ramenée presque à zéro par administration de la substance de l'invention. En d'autres termes, la substance de l'invention présente un effet analgésique.

15 EXEMPLE 26 :

Effet de prévention de l'apparition ulcère de stress dans l'estomac des rats par la substance de l'invention :

A trois groupes de rats Donryu mâles d'un
20 poids corporel de 220 à 250 g, on a administré par voie orale après 23,5 heures de jeûne, la substance de l'invention (chacun des échantillons n° 4, 7 et 8), à raison d'1 g/kg dissous dans 8 ml (pour 200 g de poids corporel) d'une solution de sérum physiologique.

25 Ces trois groupes de rats et un autre groupe de rats ayant également jeûné pendant 23,5 heures, puis ayant reçu seulement la solution de sérum physiologique ont été placés dans une cage de stress, et plongés dans l'eau à une température de 23°C jusqu'à la
30 poitrine pour provoquer un stress chez les rats.

Après sept heures d'immersion, les rats sont retirés de l'eau et sont immédiatement sacrifiés pour recueillir leur sang entier, et leurs estomacs sont extraits. La fraction plasmatique préparée à
35 partir du sang est extraite à l'éther et l'extrait

éthéré a été séparé par chromatographie sur couche mince. L'extrait séparé après transformation en les dérivés méthylloxymésilylés respectifs, est soumis à une chromatographie en phase gazeuse-spectrographie de masse pour déterminer sa teneur en 6-céto-PGF_{1α}.

On injecte une solution aqueuse à 1 % de formaldéhyde dans l'estomac extrait et, dix minutes après l'injection, on coupe l'estomac pour l'ouvrir du côté de la plus grande courbure de façon à examiner la membrane muqueuse du corps gastrique. On mesure au microscope la plus grande étendue de chaque érosion de la membrane muqueuse du rat, éventuellement présente, et sa somme exprimée en millimètres est prise comme coefficient d'ulcération du rat. Les résultats sont donnés dans le tableau 20.

Comme le montre le tableau 20, la substance de l'invention supprime efficacement l'apparition de l'ulcère de stress, et la quantité de 6-céto-PGF_{1α} dans le plasma est plus élevée chez les rats ayant reçu la substance de l'invention que chez le témoin. Comme l'augmentation du taux de 6-céto-PGF_{1α}, qui est un produit du métabolisme de la PGI₂, signifie l'augmentation du taux de PGI₂, et que la PGI₂ est reconnue comme active pour supprimer la sécrétion du suc gastrique et pour supprimer la formation d'ulcère, on considère que la substance de l'invention présente un effet anti-ulcéreux par régulation du taux de PGI₂.

TABLEAU 20

Ulçère de stress et taux de 6-céto-PGF_{1α} :

5	Groupe	Coefficient d'ulcération ¹⁾ (%)	Quantité de 6-céto-PGF _{1α} (ng/ml)
10	Témoin Substance de l'invention Echantillon N° 4 Echantillon N° 7 Echantillon N° 8	100 62 58 55	3,3 3,8 3,9 3,6

15 Note : 1) Somme des plus grandes étendues des érosions de la membrane muqueuse de l'estomac des groupes de rats traités divisée par celle du témoin, multipliée par 100.

EXEMPLE 27 :

20 Effet de la substance de l'invention sur la pyrexie provoquée par une bactérie pyrogène.

Les expériences ont été effectuées sur des chats pesant 3 à 3,5 kg. Dans des conditions aseptiques, sous pentobarbitone sodique administré par voie intra-
25 péritonéale à raison de 36 mg/kg, on a implanté une cannule de Collison dans la partie rostrale du troisième ventricule du chat.

Quelques jours après l'implantation de la cannule, alors que le chat avait récupéré de l'opération,
30 on a recueilli des échantillons de fluide cérébrospinal sans anesthésie, alors que le chat était maintenu libre dans sa cage, et on a enregistré sa température rectale.

Les échantillons de fluide cérébrospinal (c.s.f.) ont été essayés immédiatement après leur collecte,
35 ou après avoir été stockés à -2° pendant 24 à 48 heures,

et on a effectué le dosage de la PGE dans les échantil-
lons comme dans l'exemple 9 en utilisant un nécessaire
d'essai radio-immunologique de la ³H-prostaglandine E
(fabriquée par la Clinical Assay Co. USA). La tempé-
5 rature rectale a été enregistrée à la température
ambiante (21 à 23°C), la sonde du thermistor étant
insérée à une profondeur d'environ 10 cm dans le
rectum.

Comme pyrogène, on a utilisé un o-antigène
10 du type somatique de Shigella dysenteriae, et après
avoir dissous 75 ng du pyrogène dans 0,15 ml du c.s.f.
artificiel exempt de pyrogène, on a injecté la solution
dans le troisième ventricule par la cannule implantée
pour provoquer la fièvre.

15 Deux heures après l'administration, on a
mesuré la température rectale pour confirmer l'apparition
de la pyrexie puis on a administré de force par voie
orale la substance de l'invention (chacun des échantil-
lons N° 4, 7 et 8) sous forme de solution aqueuse
20 dans de l'eau distillée à raison de 100 mg/kg, le
témoin recevant seulement de l'eau distillée à ce
moment.

On a mesuré la température rectale de tous
les animaux une heure après l'administration de la
25 substance de l'invention.

Le c.s.f. destiné à la détermination de
sa teneur en PGE a été recueilli respectivement deux
heures avant et deux heures après l'injection du pyrogène
et une heure après l'administration de la substance
30 de l'invention.

Les résultats sont donnés dans le tableau
21.

TABLEAU 21

Température rectale et quantité de PGE dans le c.s.f.

	Groupe	Température rectale (°C)	Quantité de PGE (ng/ml de c.s.f.)
5			
	Témoin avant l'administration du pyrogène	39,0	2,5
10	2 heures après adm. du pyrogène	41,0	12
	1 heure après adm. d'eau *	40,7	10
15	Ayant reçu la substance de l'invention		
	Echantillon N° 4		
	avant adm. du pyrogène	39,0	2,6
	2 heures après adm. du pyrogène	41,3	11
20	1 heure après adm. de l'échantillon	39,9	5
25	Echantillon N° 7		
	avant adm. du pyrogène	38,8	2,4
	2 heures après adm. du pyrogène	41,1	16
	1 heure après adm. de l'échantillon	39,5	6
30	Echantillon N° 8		
	avant adm. du pyrogène	39,1	2,5
	2 heures après adm. du pyrogène	41,5	13
	1 heure après adm. de l'échantillon	40,0	8

Note : * eau distillée.

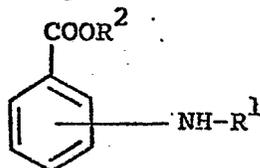
Comme le montre le tableau 21, la température rectale du chat qui a été augmentée par l'injection du pyrogène est réduite par administration de la substance de l'invention, la variation de la teneur en
5 PGE dans le c.s.f. présentant la même tendance.

En conséquence, on considère que la substance de l'invention administrée par voie orale à un mammifère présentant un symptôme de pyrexie due à l'inoculation d'un pyrogène microbien présente une activité
10 antipyrétique probablement en rapport avec la réduction de la PGE dans le c.s.f.

REVENDICATIONS

1. Composition pour réguler la production et le métabolisme des prostaglandines chez les mammifères, caractérisée en ce qu'elle comprend :

5 (a) un composé répondant à la formule générale :



10 dans laquelle R¹ désigne un membre du groupe constitué par les radicaux formés en enlevant OH en position 1 (alpha) ou 1 (béta) de l'arabinose, du xylose, du rhamnose, du glucose, du galactose, du mannose et du fructose, et R² est un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en
15 C₁ à C₄ ou un métal pharmaceutiquement acceptable, et

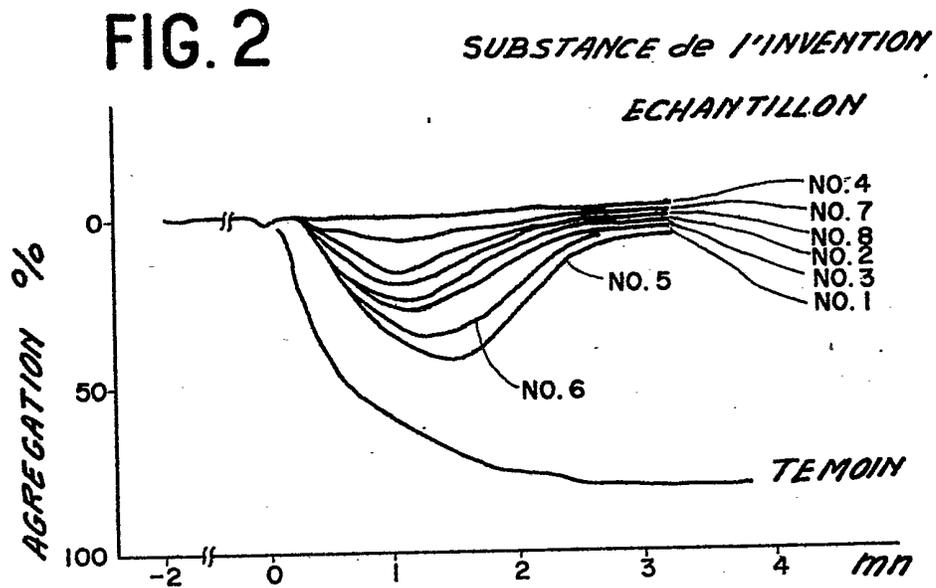
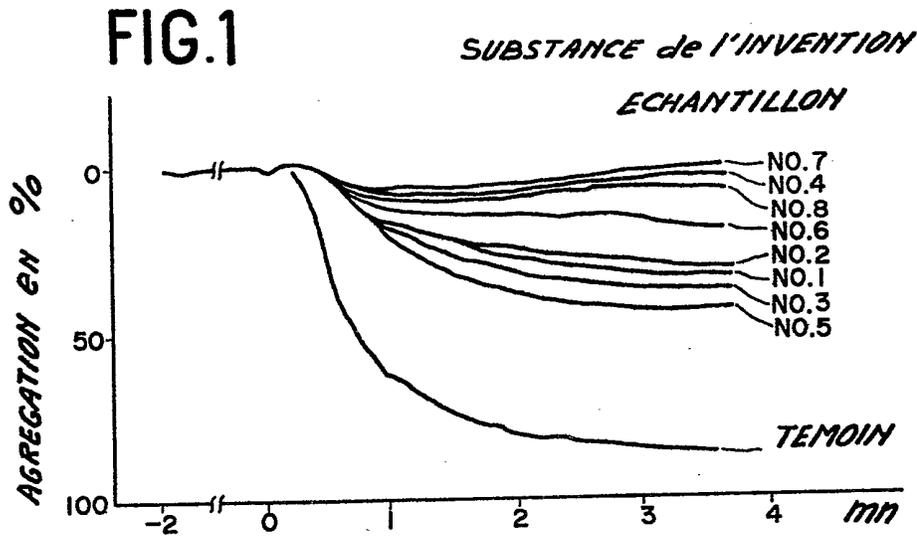
(b) un support ou diluant pharmaceutiquement acceptable pour celui-ci.

2. Composition suivant la revendication 1,
20 caractérisée en ce que ce composé est le N-D-mannoside du p-aminobenzoate de sodium.

3. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce que ce composé est le N-D-xyloside du p-aminobenzoate de sodium.

25 4. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce que ce composé est le N-L-rhamnoside du p-aminobenzoate de sodium.

1 / 9



219

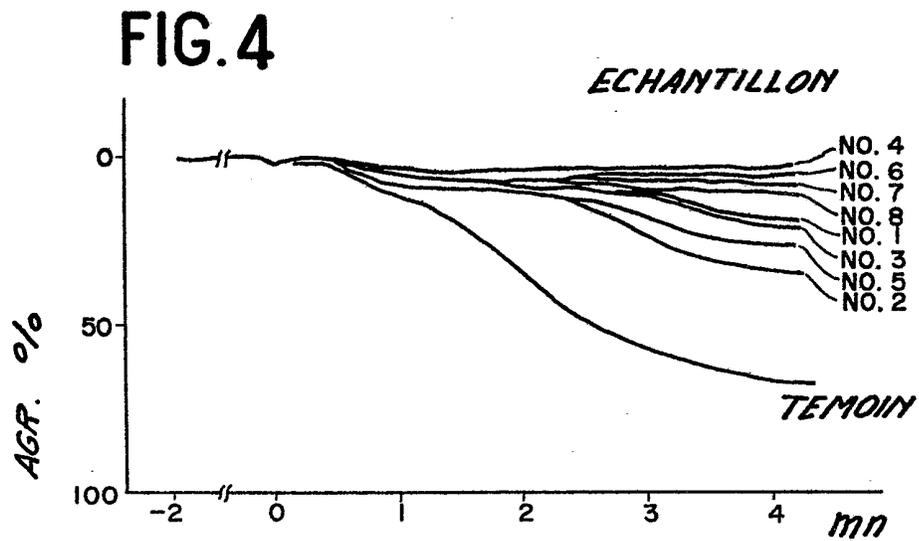
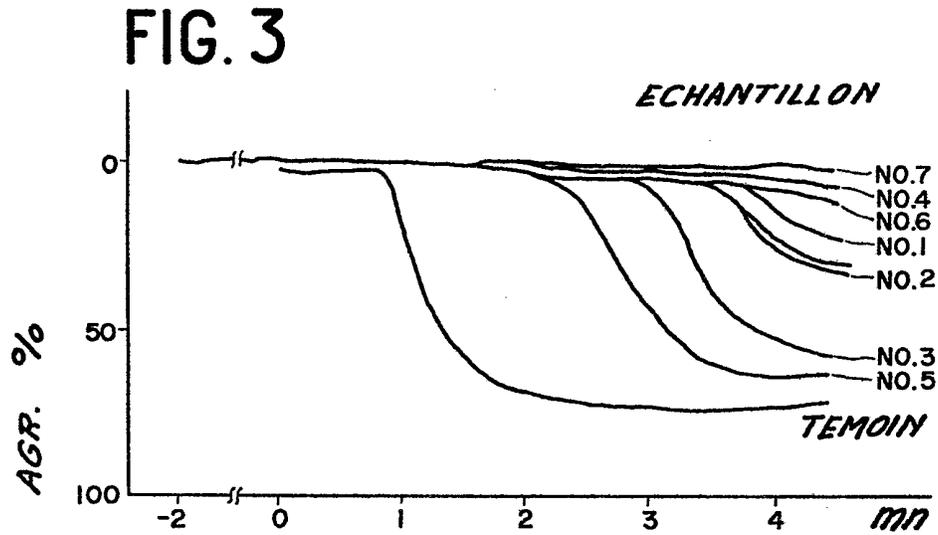


FIG. 5

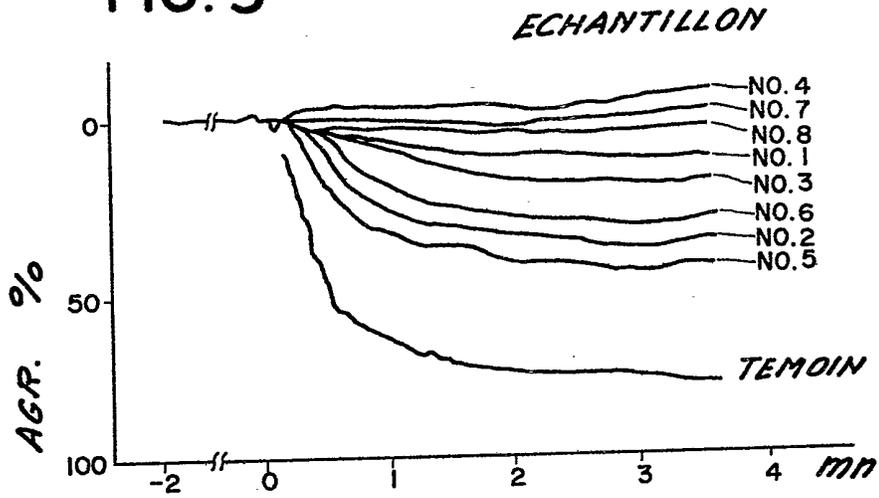
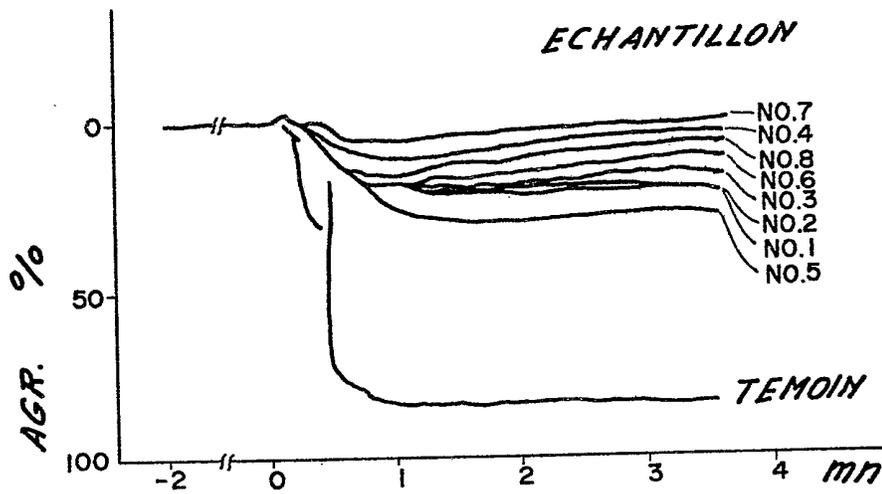
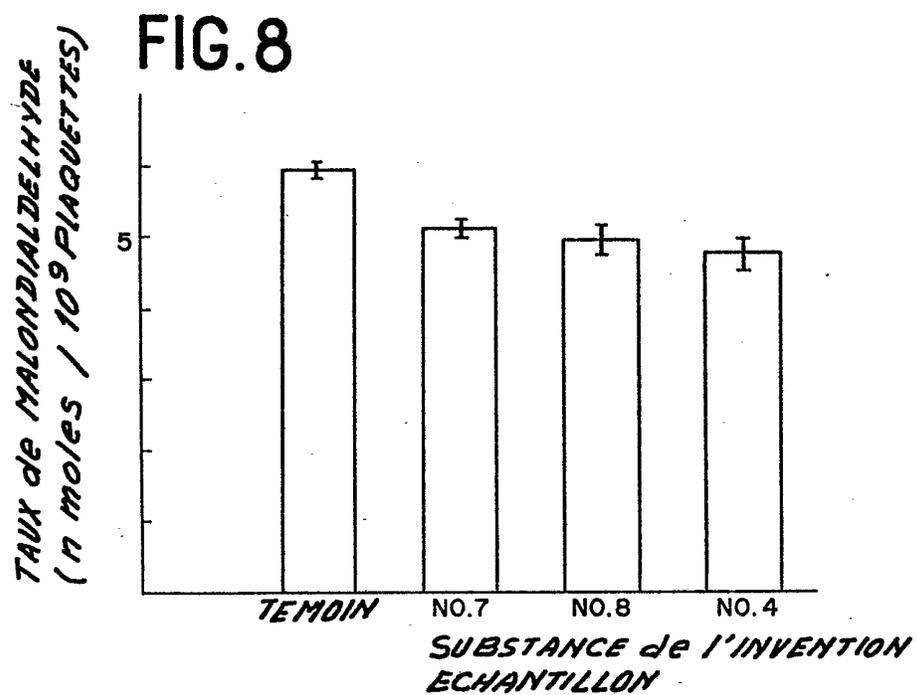
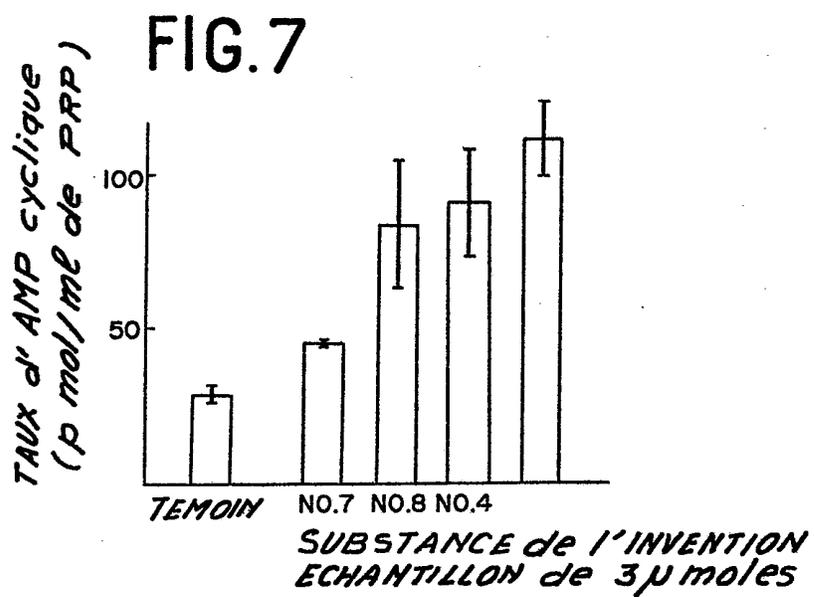


FIG. 6



4 / 9



5 / 9

VARIATION de la
PRESSION SANGUINE mm de Hg

FIG. 9

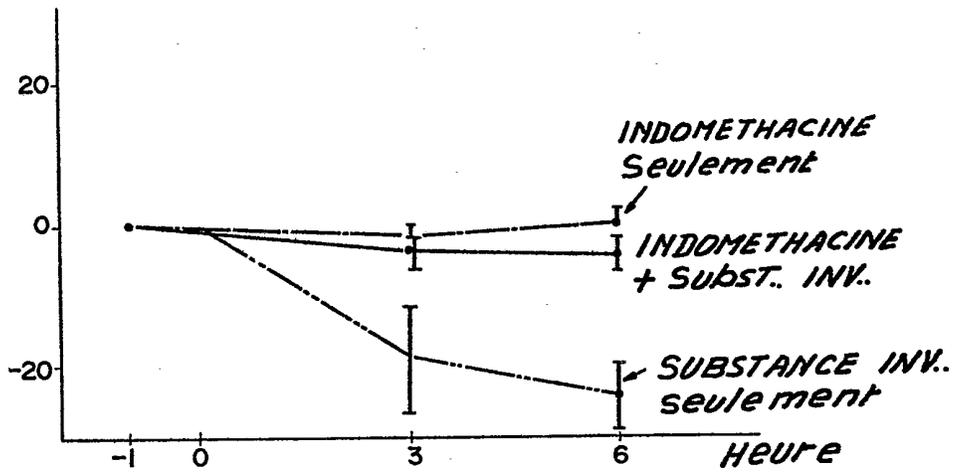


FIG. 10

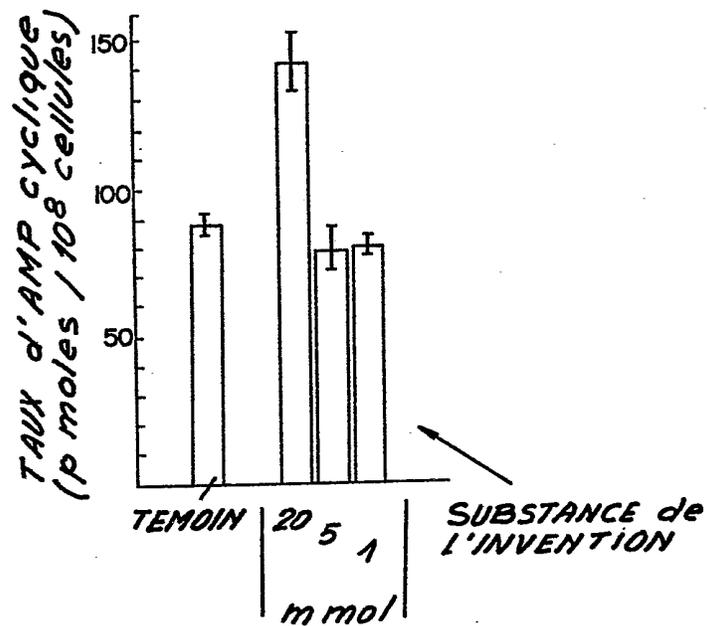
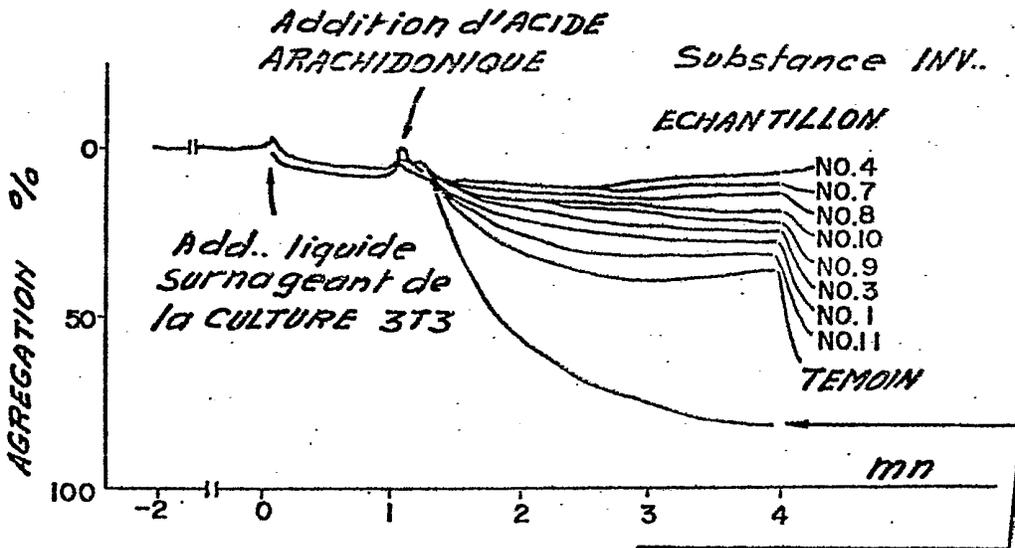
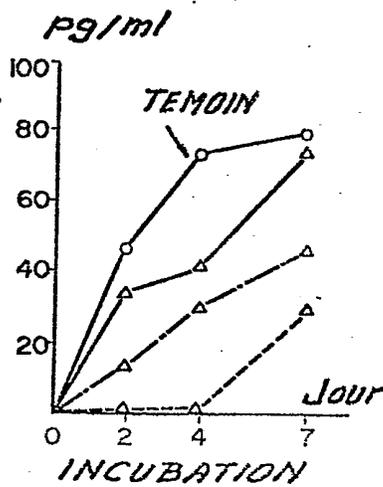


FIG.11



Teneur PGF_{2-3} cumulée (pg/ml)



----- 50

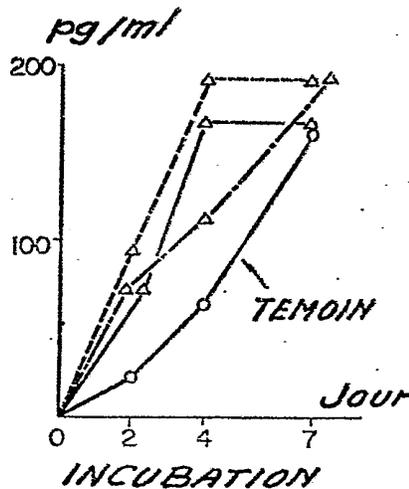
———— 500

----- 5000pg/ml

SUBSTANCE de l'INVENTION

FIG.12

CONCENTRATION REDUITE de PGE cumulée (pg/ml)



----- 50

———— 500

----- 5000pg/ml

FIG.13

Sans Liquide surnageant de la culture 3T3

7 / 9

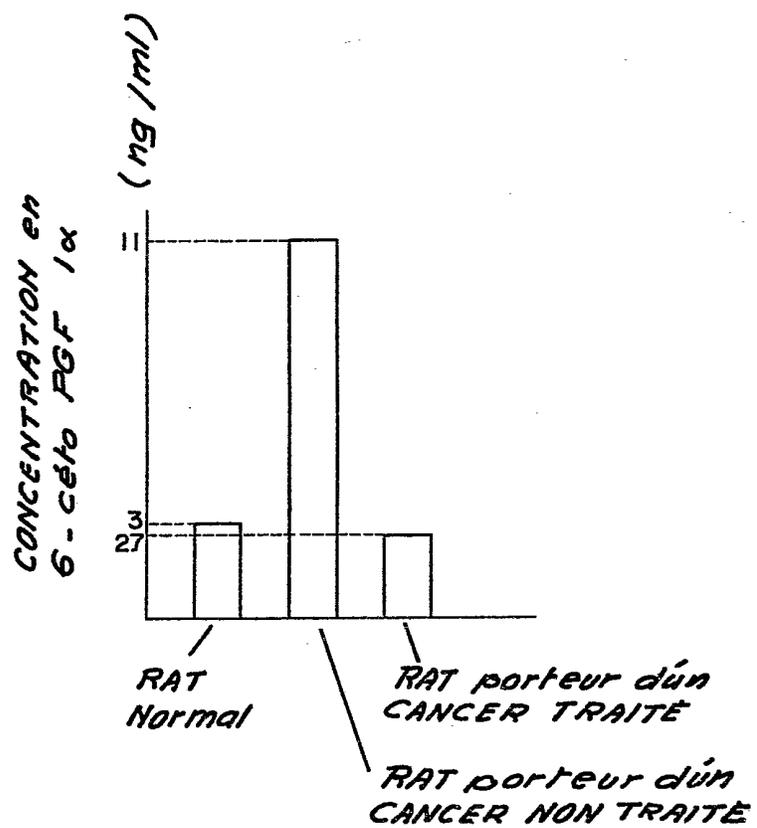


FIG.14

FIG.15

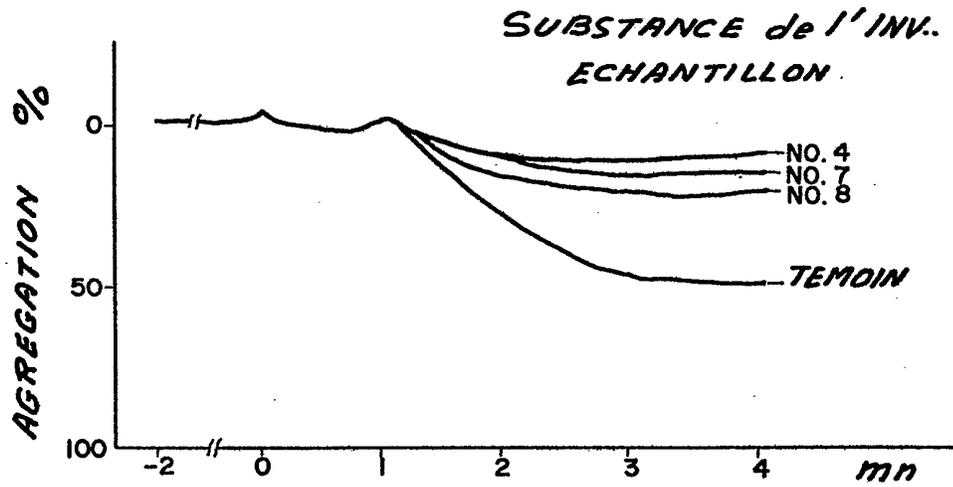


FIG. 16

