(19) Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) Numéro de publication: **0 518 769 B1**

(12) FASCICULE DE BREVET EUROPEEN

(45) Date de publication de fascicule du brevet: **07.12.94**

(51) Int. Cl.5: **C07C 233/00**, C07C 219/00, A61K 31/00

(21) Numéro de dépôt: **92401620.7**

(22) Date de dépôt: **12.06.92**

Le dossier contient des informations techniques présentées postérieurement au dépôt de la demande et ne figurant pas dans le présent fascicule.

(54) Nouveaux dérivés de benzoate d'éthanolamine, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

(30) Priorité: **14.06.91 FR 9107289**

(43) Date de publication de la demande:
16.12.92 Bulletin 92/51

(45) Mention de la délivrance du brevet:
07.12.94 Bulletin 94/49

(84) Etats contractants désignés:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL PT SE

(56) Documents cités:
EP-A- 0 061 907
FR-A- 1 570 822
FR-A- 2 356 631
GB-A- 1 112 526
US-A- 4 237 165

(73) Titulaire: **ADIR ET COMPAGNIE**
1 rue Carle Hébert
F-92415 Courbevoie Cédex (FR)

(72) Inventeur: **Wierzbicki, Michel**
8 Résidence du Chemin Pavé
F-78620 L'Etang la Ville (FR)
Inventeur: **Hugon, Pierre**
13 rue Eugène Sue
F-92500 Rueil Malmaison (FR)
Inventeur: **Duhault, Jacques**
14bis rue Paul Demange
F-78290 Croissy sur Seine (FR)
Inventeur: **Lacour,Françoise**
44 avenue du Château
F-94300 Vincennes (FR)
Inventeur: **Boulanger, Michelle**
"Le val Cort" 71, avenue Auguste Renoir
F-78160 Marly le Roi (FR)

(74) Mandataire: **Reverbori, Marcelle**
ADIR
1, rue Carle Hébert
F-92415 Courbevoie Cédex (FR)

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

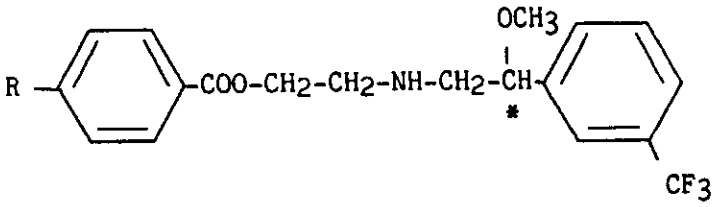
Rank Xerox (UK) Business Services
(3.10/3.09/3.3.3)

EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY vol. 141, no. 2, 1987, pages 243 - 251; JEAN-CLAUDE HENQUIN ET AL.: 'STIMULATION OF INSULIN RELEASE BY BENZOIC ACID DERIVATIVES RELATED TO THE NON-SULPHONYLUREA MOIETY OF GLIBENCLAMIDE: STRUCTURAL REQUIREMENTS AND CELLULAR MECHANISMS'	

Description

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de benzoate d'éthanolamine, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

Elle concerne particulièrement les dérivés de benzoate d'éthanolamine de formule générale I :

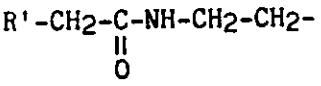


(I)

dans laquelle :

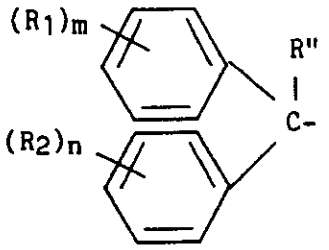
R représente :

- un atome d'hydrogène, ou
- un groupe de formule :



dans laquelle R' représente :

a) soit un radical de formule :

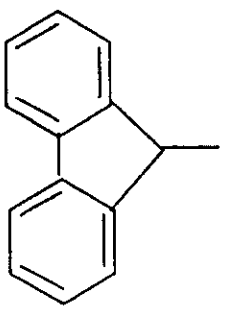


dans laquelle :

R'' représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée,

R_1 et R_2, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, et m et n identiques ou différents représentent chacun 1, 2 ou 3 ;

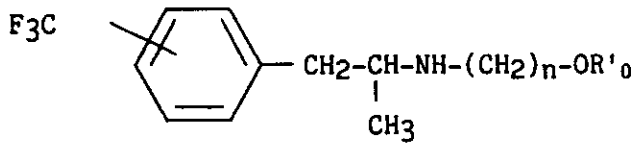
b) soit un radical fluorényle de formule :



sous forme de composé racémique ou d'énantiomères.

L'état antérieur de la technique est illustré notamment :

- par les brevets français 1.517.587 et 6564 M qui ont respectivement pour objet :
  - les composés de formule :



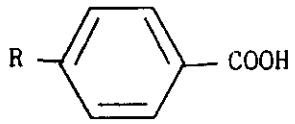
dans laquelle :

- n prend, entre autres, la valeur 2, et
  - R'_o représente un atome d'hydrogène ou un groupe COR''_o R''_o étant, entre autres, un radical phényle éventuellement substitué, et
  - l'utilisation des composés A à titre de médicaments dans le traitement notamment de l'obésité, de la douleur et de l'épilepsie ; et
- par le US-A-4,237,165 qui concerne les compositions pharmaceutiques renfermant soit le 1-(3-trifluorométhy]phényl)-2-(β-hydroxyéthyl) amino-propane soit le 1-(3-trifluorométhylphényl)-2-(β-benzoyloxyéthyl)aminopropane ou Benfluorex (DCI), utilisables dans le traitement des troubles du métabolisme.
- par le FR-A-1 570 822 qui concerne à titre de produits chimiques nouveaux des dérivés de l'acide sulfamyl benzoïque, et enfin
- par le GB-A-1, 112, 526 qui a pour objet des alkoxy trifluorométhylphénalkylamines ayant une activité antiémétique et sédative et antagoniste de la nicotine.

Des modifications importantes de structure ont conduit aux dérivés de formule I de la présente invention, lesquels régularisent le métabolisme des glucides et des lipides, et s'opposent à l'oxydation des LDL, tout en étant sans effet sur le taux de sérotonine cérébrale, ce qui n'est pas le cas des composés de l'état de la technique ci-dessus cités qui eux sont inactifs sur l'oxydation des LDL et modifient le taux de sérotonine cérébrale comme le prouve l'étude pharmacologique décrite dans l'exemple 10.

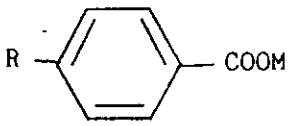
La présente invention a également pour objet le procédé de préparation des composés de formule générale I caractérisé en ce que :

- l'on transforme l'acide de formule générale II :



(II)

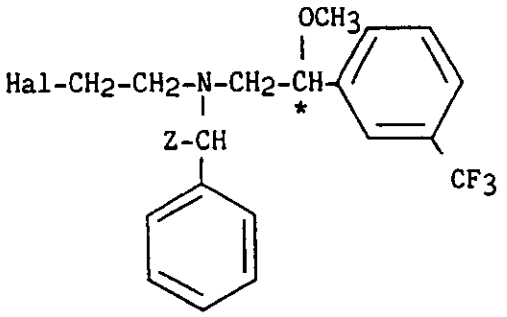
dans laquelle R a la signification précédemment définie, en un sel de formule générale II' :



(II')

dans laquelle R a la signification précédemment définie et M est un métal alcalin ou alcalino-terreux ;

- l'on fait réagir ce dernier avec un composé halogéné de formule générale III :

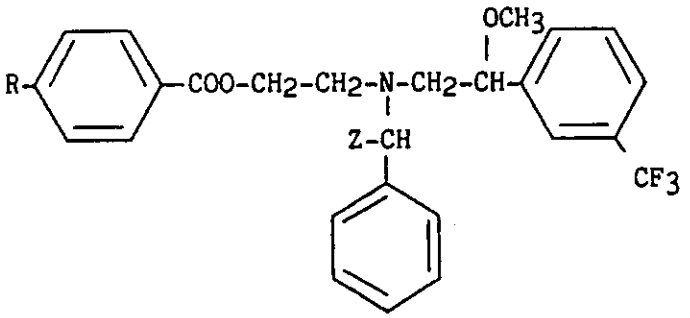


(III)

dans laquelle :

- Z représente un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, et
- Hal représente un atome d'halogène tel qu'un atome de chlore, de brome ou d'iode ;

et l'on débenzyle catalytiquement le composé ainsi obtenu de formule générale IV :



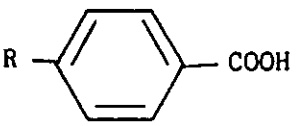
(IV)

dans laquelle R et Z ont les significations précédemment définies.

Les composés de formule générale III dans laquelle Z représente un atome d'hydrogène conduisent à des composés IV racémiques.

Les composés de formule générale III dans laquelle Z représente un radical méthyle conduisent soit à des composés IV racémiques, soit à des énantiomères lévogyres ou dextrogyres selon que le groupement α-méthylbenzyle lié à l'atome d'azote est RS, S ou R respectivement.

Certaines matières premières de formule générale II :



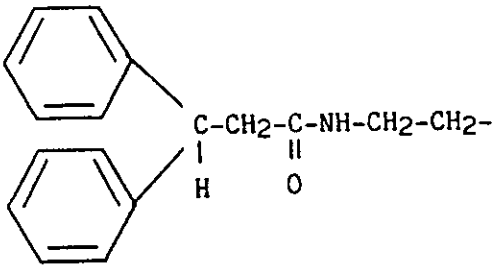
(II)

sont connues.

C'est le cas des acides de formule générale II dans laquelle R représente :

- soit un atome d'hydrogène (dans ce cas le composé II est l'acide benzoïque qui est un produit du commerce)

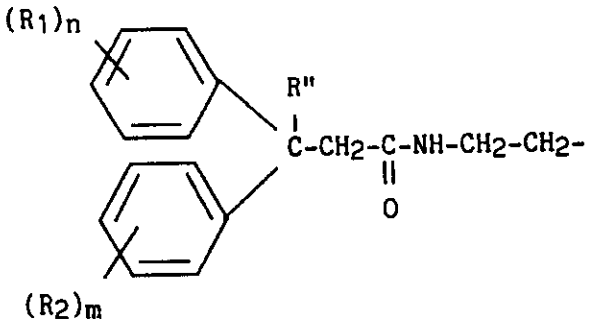
- soit un groupe :



cf : European Journal of Pharmacology (1987), 141-2, 243-251 ;

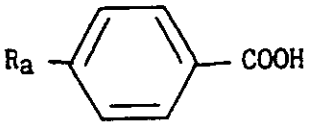
- soit le radical fluorén-9-yl acétylaminoéthyl-, cf : brevet US 4.136.197.

Dans les autres cas, c'est à dire lorsque R représente un groupe :



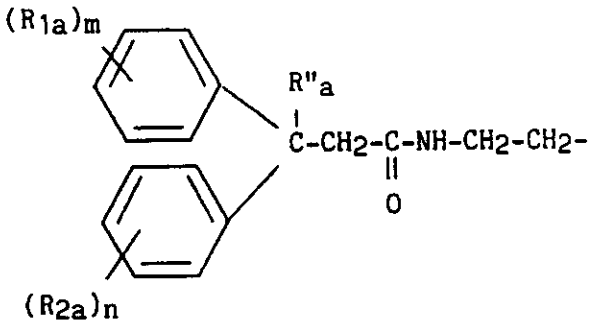
dans laquelle : R_1, R_2, R", n et m sont tels que précédemment définis mais de plus R_1, R_2 et R" ne représentent jamais simultanément un atome d'hydrogène, les composés II correspondants sont des produits nouveaux qui font, à ce titre, partie de la présente invention.

Sont donc inclus dans la présente invention, à titre de matières premières nouvelles utilisables pour la synthèse des composés de formule générale I -eux-mêmes utilisables comme médicaments- les composés II répondant plus spécifiquement à la formule générale IIa :



(IIa)

dans laquelle R_a représente un groupe de formule générale A :



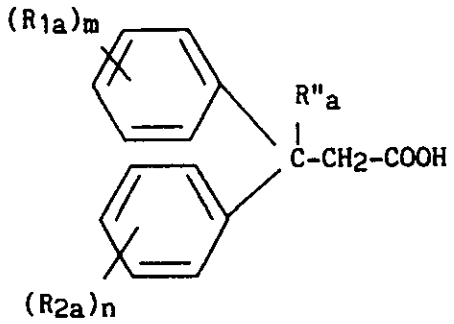
(A)

dans laquelle :

- m et n ont les significations précédemment définies,

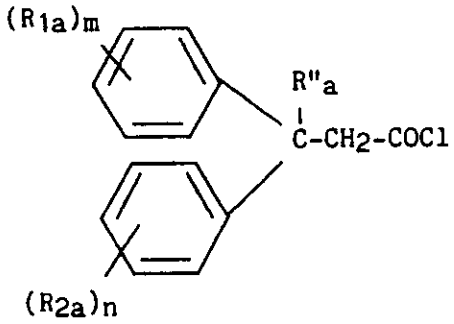
- R''_a représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée,
- R_{1a} et R_{2a}, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, à condition toutefois que R_{1a}, R_{2a} et R"a ne représentent jamais simultanément un atome d'hydrogène.

Les composés II qui sont nouveaux ont été préparés en transformant les acides de formule générale V :

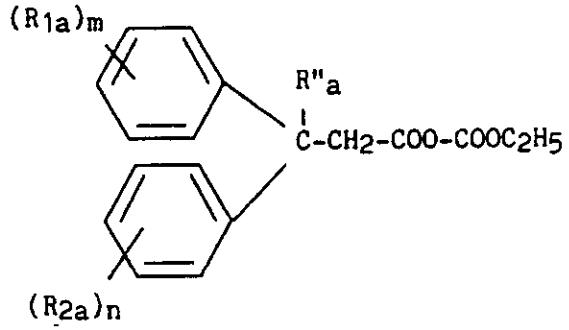


(V)

dans laquelle : R''_a, R_{1a}, R_{2a}, m et n ont les significations précédemment définies, en chlorure d'acide ou en anhydride mixte, respectivement de formule générale V_a ou V_b :



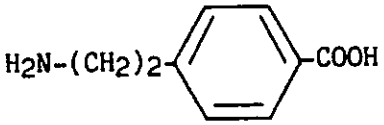
(Va)



(Vb)

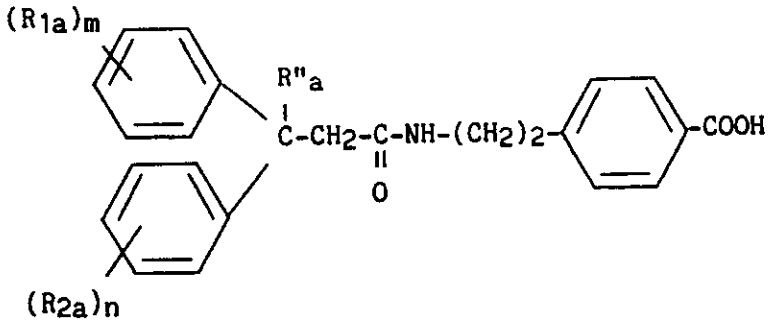
lesquels sont condensés

a) soit sur un amino acide de formule VIa :



(VIa)

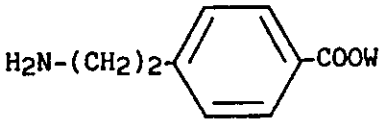
pour obtenir directement un composé de formule IIa, formule que l'on peut écrire plus précisément comme suit :



(IIa)

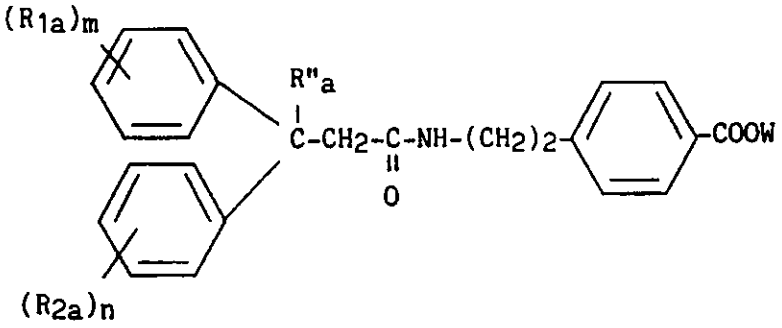
dans laquelle R"a, R_{1a}, R_{2a}, m et n ont les significations précédemment définies.

b) soit sur un amino ester de formule VIb :



(VIb)

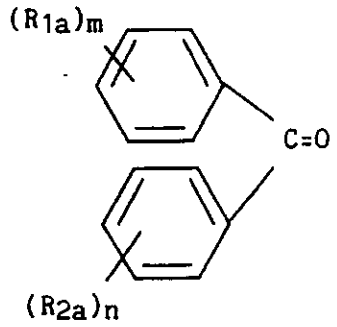
dans laquelle W est un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée pour obtenir un composé de formule générale II'a :



(II'a)

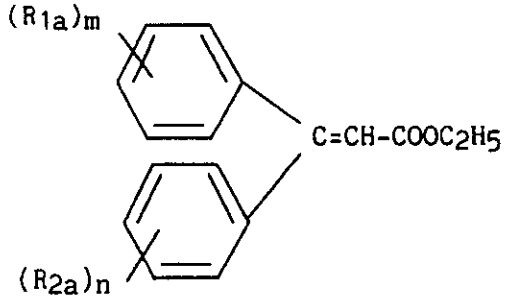
dans laquelle R"a, R_{1a}, R_{2a}, m, n et W ont les significations précédemment définies, lequel est hydrolysé en acide de formule IIa.

Dans le cas ou R"a représente un atome d'hydrogène, les acides V correspondants ont eux-mêmes été obtenus par réaction de HORNER entre la cétone de formule B :



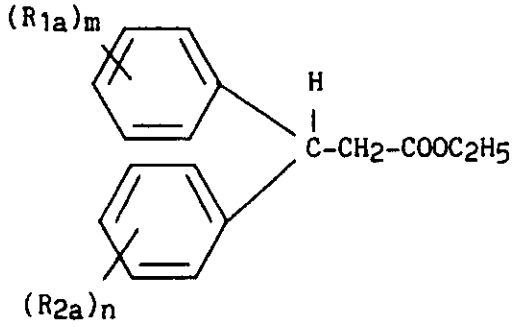
(B)

et le phosphonoacétate d'éthyle [$(C_2H_5O)_2OP\text{-}CH_2\text{-}COOC_2H_5$] réaction suivie d'une hydrogénation catalytique du composé ainsi formé de formule C :



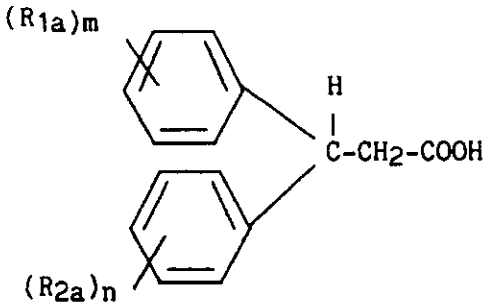
(C)

pour donner l'ester de formule D :



(D)

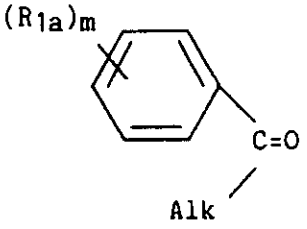
lequel est ensuite hydrolysé en acide correspondant de formule E :



(E)

(R_{1a}, R_{2a}, m et n ayant, dans toutes ces formules, les définitions précédemment définies), c'est à dire en acide V dans le cas où R'' représente un atome d'hydrogène.

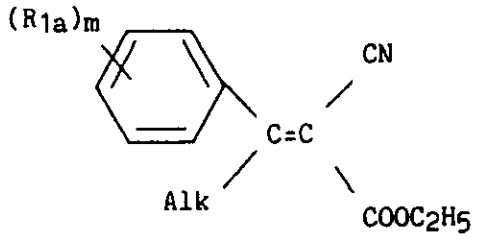
Dans le cas où R''_a représente un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, les acides V correspondants ont eux-mêmes été obtenus par condensation de COPE entre la cétone de formule B' :



(B')

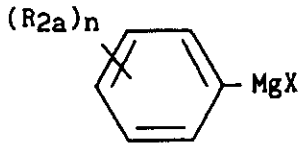
(dans laquelle R_{1a} et m sont tels que précédemment définis et Alk représente un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée)

et le cyanoacétate d'éthyle ($NC-CH_2-COOC_2H_5$) dans le toluène, en présence d'acide acétique et d'acétate d'ammonium pour donner le dérivé éthylénique de formule F :



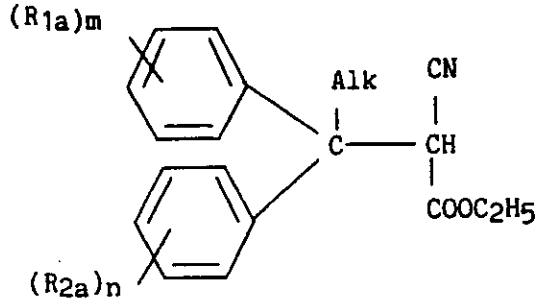
(F)

lequel est alors soumis à l'action d'un composé organomagnésien de formule G :



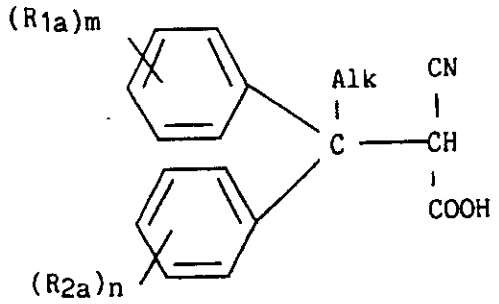
(G)

(R_{2a} et n étant tels que précédemment définis et X étant un atome d'halogène) pour donner le composé de formule H :



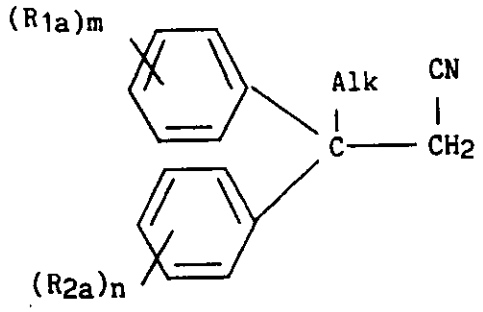
(H)

(dans laquelle R_{1a}, R_{2a}, m, n et Alk sont tels que précédemment définis) lequel composé H est hydrolysé en acide de formule J :



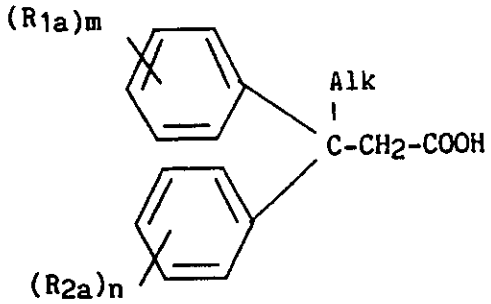
(J)

qui est décarboxylé pour donner le nitrile de formule K :



(K)

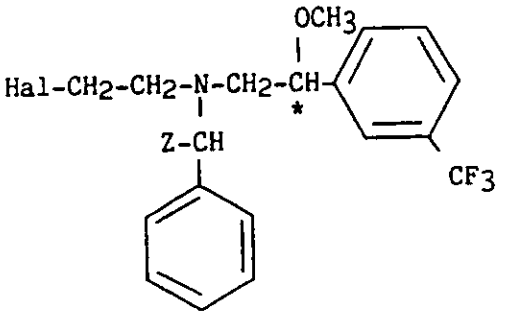
lequel est à son tour hydrolysé en acide attendu de formule L :



(L)

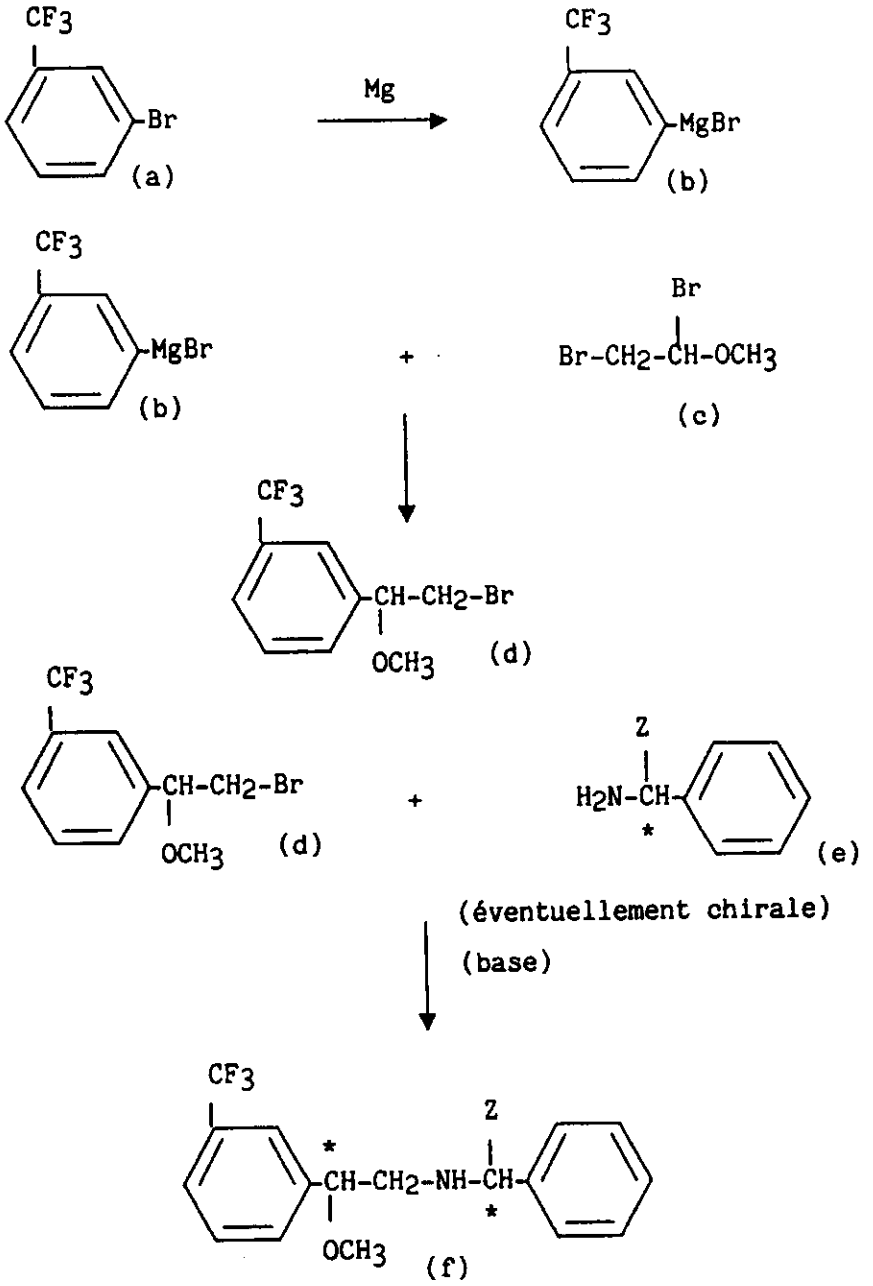
(dans laquelle R_{1a}, R_{2a}, m, n et Alk sont tels que précédemment définis) ; c'est à dire en acide de formule V dans le cas où R''_a représente un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée.

Les matières premières de formule générale III :



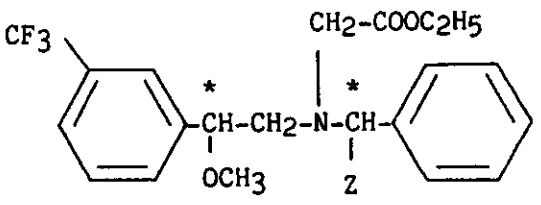
(III)

dans laquelle Hal et Z sont tels que précédemment définis, ont été obtenues selon le processus réactionnel suivant :



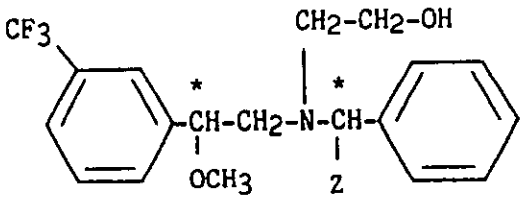
et l'on recristallise cette dernière sous forme de chlorhydrate. Dans le cas où Z représente un radical méthyle, selon que l'α-méthylbenzylamine de départ est R ou S on obtient, par recristallisation, le chlorhydrate du composé (f) sous forme de l'un ou l'autre des diastéréoisomères.

L'amine benzylée de formule f (éventuellement sous forme de diastéréoisomère pur) est ensuite alcoylée au moyen de bromoacétate d'éthyle en présence d'une base telle que le carbonate de potassium pour obtenir le composé de formule g :



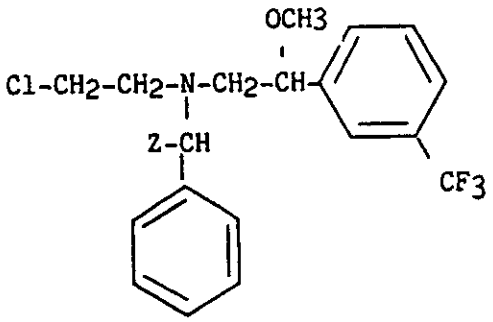
(g)

lequel est alors réduit par $LiAlH_4$ en alcool de formule h :



(h)

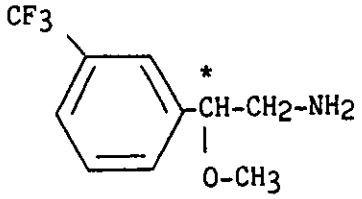
Ce dernier est ensuite transformé en halogénure III, au moyen d'un composé halogéné (tel que par exemple $SOCl_2$, PCl_5 ou $POCl_3$ pour obtenir plus précisément un composé de formule III dans laquelle Hal représente un atome de chlore soit :



)

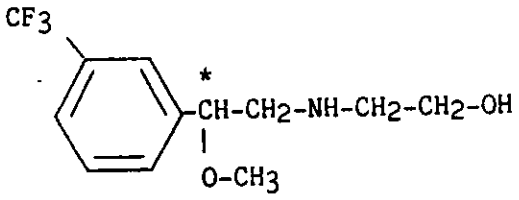
La présente invention a aussi pour objet le procédé de préparation des composés de formule générale I caractérisé en ce que :

- l'on fait réagir l'amine primaire (éventuellement chirale) de formule VII :



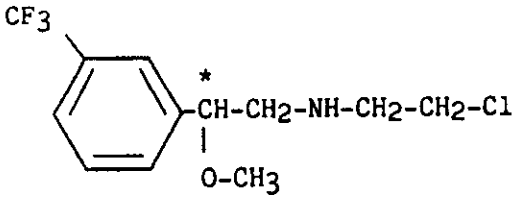
(VII)

avec de l'oxyde d'éthylène pour obtenir le composé de formule VIII :



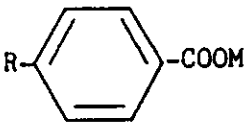
(VIII)

que l'on transforme en chlorure de formule IX :



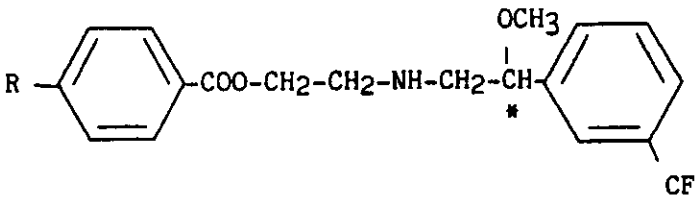
(IX)

et l'on couple ce dernier avec un sel de formule générale II' :



(II')

dans laquelle R et M sont tels que précédemment définis pour obtenir un composé de formule générale I :



(I)

Les composés de formule générale I peuvent être transformés en sels d'addition avec les acides, sels qui font, à ce titre, partie de la présente invention.

Comme acides utilisables pour la formation de ces sels, on peut citer, par exemple, dans la série minérale, les acides chlorhydrique, bromhydrique, nitrique, sulfurique, phosphorique et dans la série organique, les acides acétique, propionique, maléique, fumarique, tartrique, oxalique, benzoïque, méthane sulfonique et iséthionique.

Les composés de formule générale I et leurs sels d'addition physiologiquement tolérables possèdent des propriétés pharmacologiques et thérapeutiques intéressantes, notamment des propriétés régulatrices du métabolisme des glucides et des lipides. De plus, ils provoquent une diminution modérée de la pression artérielle.

Plus précisémment, les composés de la présente invention améliorent l'efficacité de l'insuline à un niveau périphérique et/ou hépatique, d'où une amélioration de la tolérance au glucose et de d'hyperglycémie modérée, lorsqu'elle existe, sans risque d'hypoglycémie, ainsi qu'une réduction de l'hyperinsulinémie. De plus, les composés réversent l'insulinorésistance induite par l'amyline.

Ils diminuent également l'hypertriglycéridémie et l'opposent à l'oxydation des LDL (Lipoprotéines de faible densité) d'où une implication dans la prévention des macroangiopathies.

Ils provoquent une réduction pondérale modeste, associée à une réduction de prise alimentaire, non reliée à un mécanisme sérotoninergique et par ces deux dernières propriétés, ils se différencient des produits existant dans ce domaine (Benfluorex, Fenfluramine).

Ces propriétés permettent de les utiliser en thérapeutique notamment pour le traitement des diabétiques non insulino dépendants non traités par un régime, des diabétiques non insulino dépendants traités par les médicaments hypoglycémiants, des diabétiques insulino dépendants ou non traités à l'insuline, ou des sujets non hyperglycémiques ayant une hyperinsulinémie (i.e. une obésité androïde) hypertendus ou non et présentant tous une résistance à l'insuline, induite ou non par l'amyline.

Ainsi les produits de l'invention sont utilisés dans le traitement du diabète, de l'obésité, du syndrome X (par le biais de l'amélioration de l'effet de l'insuline à la périphérie et/ou au niveau du foie, de la diminution des triglycérides et de l'oxydation des LDL, associé à une réduction pondécale modérée), et dans le traitement de l'hypertension chez les sujets insulinorésistants ou ayant des anomalies métaboliques telles que, par exemple, hyperinsulinémie, dyslipémie, hyperglycémie, associées ou non, secondaire ou non aux effets de l'amyline.

La présente invention a également pour objet les compositions pharmaceutiques contenant, comme principe actif, un dérivé de formule générale I ou un de ses sels physiologiquement tolérable, mélangé ou associé à un ou plusieurs excipients pharmaceutiques appropriés.

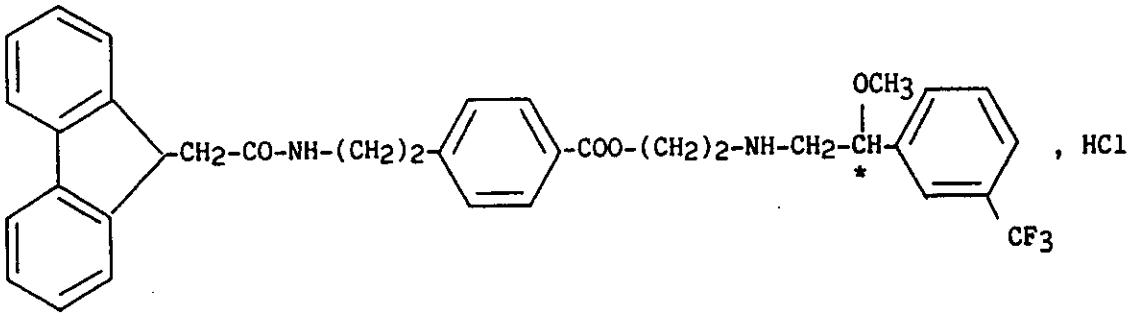
Les compositions pharmaceutiques ainsi obtenues se présentent généralement sous forme dosée contenant de 25 à 100 mg de principe actif. Elles peuvent revêtir la forme de comprimés, dragées, gélules, suppositoires, solutions injectables ou buvables et être administrées par la voie orale, rectale ou parentérale.

La posologie peut varier notablement selon l'âge et le poids du patient, la voie d'administration, la nature de la maladie et les traitements associés et s'échelonne de 25 à 100 mg de principe actif par prise, 1 à 4 fois par jour.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

Exemple 1

Isomère lévogyre du chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthyl amino] éthyle.

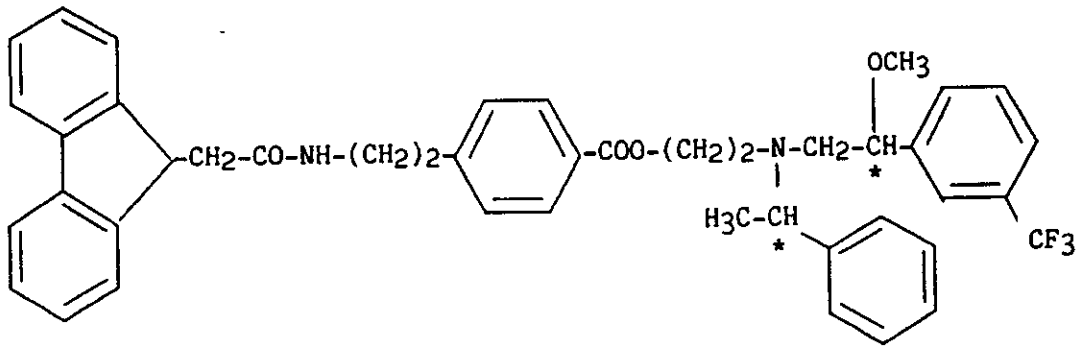


8,3 g de l chlorhydrate de N-(β-chloroéthyl) N(α-phényléthyl) N-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthyl] amine sont agités dans 100 ml d'eau, 100 ml d'éther et 2,5 ml de solution concentrée d'hydroxyde de sodium. Par décantation, la phase ethérée est recueillie, séchée sur $MgSO_4$; le solvant est distillé et le résidu dissout dans 50 ml de diméthylformamide anhydre.

Cette solution est alors versée lentement dans un ballon contenant 7,3 g d'acide para[2-(fluorén-9-yl acétylamino) éthyl] benzoïque, 2,7 g de K_2CO_3 et 100 ml de diméthylformamide, l'ensemble ayant été préalablement porté à 60 °C pendant 45 minutes.

Après addition du dérivé chloré le mélange réactionnel est porté à 90 °C, sous azote, pendant 3 heures. Le solvant est distillé sous vide et le résidu repris par l'éther. Le précipité de chlorure de potassium est filtré et l'éther distillé. Le résidu obtenu (environ 13 g) est filtré sur 300 g de silice en éluant avec le mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle (95/5).

On obtient ainsi 8 g du composé IV de formule :



7 g de ce composé mis en solution dans 160 ml d'isopropanol anhydre sont hydrogénés sous une pression d'hydrogène d'environ 90 LBS, jusqu'à absorption totale de la quantité d'hydrogène nécessaire, et ce à une

température de 50 °C.

La solution est ensuite filtrée sur talc, le solvant est distillé et le résidu filtré sur 100 mg de silice en éluant avec un mélange $CH_2Cl_2/CH_3COOC_2H_5$ (50/50).

Le solvant de la fraction contenant le produit est distillé. L'huile résiduelle est reprise par l'éther et additionnée d'un léger excès d'une solution d'éther chlorhydrique. Le précipité obtenu est filtré, lavé à l'éther. On obtient ainsi 4,5 g de l'isomère lévogyre du chlorhydrate de para[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-metatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

Pouvoir rotatoire : (C = 1 % dans l'éthanol).

[α]589 : -29,7

[α]578 : -30,6

[α]546 : -34,7

[α]436 : -58,3

[α]365 : -90,9

L'acide para[2-(fluorén-9-yl acétylamino) éthyl] benzoïque de départ a été préparé selon le brevet US 4.136.197.

Le l chlorhydrate de N-(β-chloroéthyl) N-(α-phényléthyl) N-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthyl] amine de départ a été préparée comme suit :

a) 225 g de 3-trifluorométhyl bromobenzène sont additionnés, goutte à goutte dans un mélange de 27 g de magnésium et 500 ml d'éther anhydre auquel on a préalablement ajouté un cristal d'iode. La réaction est effectuée de manière à assurer un léger reflux de l'éther. Une fois le magnésium dissout, on ajoute lentement 232 g de 1-méthoxy 1,2-dibromoéthane (préparé selon la technique décrite dans Organic Synthèses vol IV p 748 en remplaçant l'éthanol par le méthanol).

Le reflux est maintenu pendant 1 heure après la fin de l'addition. Le mélange est alors refroidi puis hydrolysé par 250 ml d'eau. Après décantation, la phase éthérée est lavée à l'eau, puis séchée.

On distille le solvant, puis le produit sous pression réduite. On obtient 203 g de 3-trifluorométhyl 1-(2-bromo 1-méthoxy éthyl) benzène. ($Eb/_{13\ Pa}$ = 68 °C).

b) On porte à reflux 202 g de ce dérivé bromé et 173 g d'α-méthyl benzylamine (S) dans 714 ml de xylène pendant 6 heures.

On distille ensuite le xylène et reprend le résidu à l'éther. Le filtrat obtenu, après élimination du bromure d'α-méthylbenzylammnonium, est distillé. On recueille ainsi 144 g de produit qui bout à 125-128 °C sous 13 Pa.

Ce composé dissout dans l'éther est additionné de 94 ml d'éther chlorhydrique 5N. Le précipité obtenu est filtré, lavé à l'éther, recristallisé deux fois dans, chaque fois, 550 ml d'isopropanol.

On obtient ainsi 80 g du diastéréoisomère pur.

c) 21 g de ce dernier sont mis à réagir avec 12 g de bromoacétate d'éthyle et 9,8 g de carbonate de potassium dans 65 ml d'éthanol anhydre. On porte à reflux pendant 8 heures, rajoute alors 2 ml de bromoacétate d'éthyle et 2,5 g de carbonate de potassium, et chauffe de nouveau pendant 4 heures. On filtre le dérivé minéral, distille l'éthanol et le bromoacétate en excès, et utilise l'huile résiduelle telle quelle.

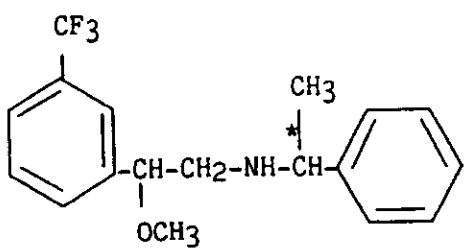
d) 27 g de l'ester ainsi obtenu sont mis à réagir avec 3,78 g de $LiAlH_4$ dans 150 ml de tétrahydrofurane anhydre, à reflux pendant 5 heures.

On hydrolyse ensuite le mélange par 3,8 ml d 'eau, puis 3,8 ml de NaOH 4N et enfin 11,4 ml d'eau.

On filtre et concentre la phase organique que l'on utilise telle quelle.

e) 22,9 g de l'alcool ainsi obtenu sont dissous dans 65 ml de chloroforme. On ajoute goutte à goutte, à la solution, 10,5 ml d'éther chlorhydrique 6N. On évapore le solvant, reprend le résidu dans 65 ml de chloroforme et y ajoute, goutte à goutte, 8,2 g de chlorure de thionyle.

On porte à reflux pendant 5 heures, puis distille le solvant. Le résidu est repris par 150 ml d'acétate d'éthyle et dissous à chaud. On laisse refroidir jusqu'à formation d'un léger précipité correspondant à :



, HCl

que l'on élimine de cette manière.

On distille ensuite le solvant de la solution restante et le produit résiduel (qui est le l chlorhydrate de N-(β-chloroéthyl) N-(α-phényléthyl) N-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthyl] amine) est utilisé tel quel.

Exemples 2 à 7

En opérant comme décrit dans l'exemple 1 ont été préparés les composés suivants :

2. Isomère dextrogyre du chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle, de pouvoir rotatoire (c = 1% dans l'éthanol).

[α]589 : + 30,0
[α]578 : + 31,3
[α]546 : + 35,8
[α]436 : + 61,4
[α]365 : + 95,0

3. dl chlorhydrate de para-[2-(α-florén-9-yl acétylamino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

4. Isomère lévogyre du chlorhydrate de para-[2-(benzhydrylacétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

Pouvoir rotatoire (c = 1% dans l'éthanol à 21 °C).

[α]589 : - 32,3
[α]578 : - 33,5
[α]546 : - 38,1
[α]436 : - 64,5
[α]365 : - 100,7.

5. dl chlorhydrate du benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle, PF (Kofler) : 122-123 °C.

6. Isomère lévogyre du chlorhydrate du benzoate de 2[(β-méthoxy-β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

Pouvoir rotatoire (c = 1% dans l'éthanol à 23 °C).

[α]589 : - 52,9
[α]578 : - 55,1
[α]546 : - 62,7
[α]436 : - 106,6
[α]365 : - 167,3.

7. Isomère dextrogyre du chlorhydrate du benzoate de 2-[(β-méthoxy-β-métatrifluoro-méthylphényl) éthylamino] éthyle.

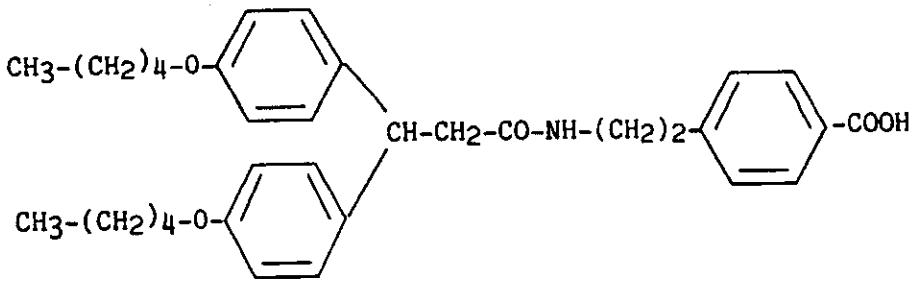
Pouvoir rotatoire (c = 1% dans l'éthanol à 23 °C).

[α]589 : + 51,5
[α]578 : + 53,9
[α]546 : + 61,1
[α]436 : + 103,6
[α]365 : + 152,2.

Exemples 8 et 9

Les matières premières nouvelles de formule générale IIa ont été préparées selon la méthode illustrée dans les exemples suivants :

8. Acide para{2-[N-(bis 4,4'-n.pentyloxybenzhydrylacétyl) amino] éthyl} benzoïque



a) para n.pentyloxybromobenzène : A 173 g de p.bromophénol en solution dans 1800 ml de méthanol sont ajoutés 276 g de carbonate de potassium sec. Après agitation, le mélange réactionnel est traité avec 164 ml de n.bromopentane et maintenu à reflux pendant 4 heures sous agitation.

Après refroidissement, 3 litres d'eau sont ajoutés et le méthanol est éliminé sous vide de la trompe à eau.

Après extraction par 2 litres puis 2 fois 1 litre d'éther, les solutions organiques sont réunies et lavées par 3 fois 1 litre d'eau. Après séchage sur $MgSO_4$ anhydre, le solvant est évaporé sous vide et le résidu distillé.

On obtient 222,8 g de para-n.pentyloxy bromobenzène ($Eb/_{13\ Pa}$ = 87-91 °C). Rendement : 91,6 %.

b) para-n.pentyloxybenzaldéhyde : en opérant comme précédemment à partir de 33 g de para hydroxy benzaldéhyde, 74,5 g de carbonate de potassium et 45 g de n.bromopentane, on a isolé 21 g de para n.pentyloxybenzaldéhyde ($Eb/_{1,3\ Pa}$: 112-114 °C). Rendement : 37 %.

c) n.pentyloxybenzylidène malonate d'éthyle :

A 38,5 g de para-n.pentyloxy benzaldéhyde et 31 ml de malonate d'éthyle en solution dans 400 ml de diméthylformamide anhydre sont ajoutés 32,6 g de chlorhydrate de diméthylamine et 1,7 g de fluorure de potassium. Le mélange réactionnel est chauffé sous agitation pendant 18 heures. Après refroidissement, le solvant est évaporé sous vide (13.10^2 à 20.10^2 Pa). Le résidu est repris par 2 fois 250 ml de chlorure de méthylène. La couche organique est lavée par 200 ml d'une solution normale d'acide chlorhydrique puis 2 fois 200 ml d'eau.

Après séchage sur sulfate de magnésium anhydre, le solvant est évaporé sous vide de la trompe à eau. Par distillation du résidu, on obtient 49,8 g de para-n.pentyloxybenzylidène malonate d'éthyle ($Eb/_{13\ Pa}$ = 170-175 °C). Rendement : 74,5 %.

d) α-carbéthoxy β,β-[bis(para-n.pentyloxyphényl)] propanoate d'éthyle :

A la solution de bromure de para-n.pentyloxyphényl magnésium préparée à partir de 5,8 g de para-n.pentyloxy bromobenzène, 0,64 g de magnésium en tournures dans 30 ml de tétrahydrofurane (THF) (coulé en 1 heure à reflux puis maintenu à reflux pendant encore 1 heure), sont ajoutés : 8 g de para-n.pentyloxy benzylidène malonate d'éthyle en solution dans 25 ml de THF en 30 minutes. Après 2 heures 30 de reflux sous agitation, on coule 25 ml d'une solution normale d'HCl. Le mélange réactionnel est extrait par trois fois 50 ml d'eau, puis séchée sur $MgSO_4$. Après évaporation, le résidu est purifié par chromatographie. On obtient 8,7 g de produit attendu.

e) Acide β,β-[bis(para-n.pentyloxyphényl)] propionique :

A une solution de 6,2 g de potasse dans 100 ml d'eau sont ajoutés 8,5 g de produit obtenu en d) en solution dans 22,5 ml d'éthanol. La solution obtenue est maintenue à reflux pendant 1 heure 30. Après élimination du solvant sous vide de la trompe à eau, le résidu est repris par 200 ml d'eau puis acidifié par 11 ml d'une solution à 37 % d'HCl concentré. L'huile formée est extraite par 3 fois 100 ml d'éther. Après lavage par 2 fois 50 ml d'eau, l'éther est séché sur sulfate de magnésium puis évaporé sous vide. On obtient 5,6 g de produit, PF : 134-136 °C, Rendement : 75 %.

Le résidu est chauffé pendant 15 minutes à 180-190 °C. Après lavage à l'éther de pétrole, on obtient 3,3 g d'acide β,β-[bis(para-n.pentyloxyphényl)] propionique , PF : 72 °C, Rendement : 67 %.

f) para- {2-[N-(bis 4,4'-n.pentyloxy benzhydryl acétyl) amino] éthyl} benzoate d'éthyle :

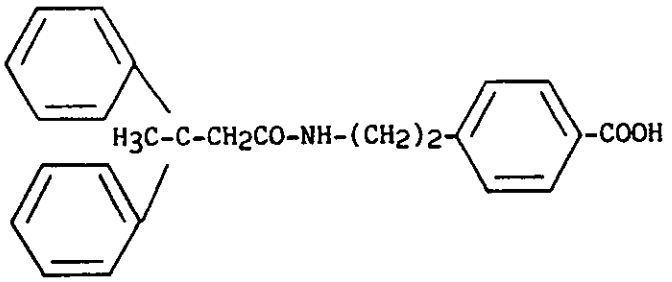
A 3,06 g de l'acide préparé en e) en solution dans 30 ml de THF, sont ajoutés 1,07 ml de triéthylamine dans 10 ml de THF. Après 1 heure d'agitation, la solution obtenue est ajoutée à 0,76 ml de chloroformiate d'éthyle dans 30 ml de THF refroidi à 0 °C. Puis 1,56 g de para[β(amino) éthyl] benzoate d'éthyle en solution dans 10 ml de THF sont coulés en 15 minutes. La température s'élève à 10 °C. Après 45 minutes d'agitation à température ambiante, et 12 heures de reflux, le précipité est

essoré et le filtrat tiré à sec sous vide. Après chromatographie, on obtient 3,06 & du benzoate attendu.

g) Acide para-{2-[N-(bis 4,4'-n.pentyloxy benzhydryl acétyl) amino] éthyl} benzoïque :

3 g de l'ester obtenu en f), 15 ml d'éthanol et 5,7 ml de solution normale de soude maintenus à reflux pendant 2 heures, conduisent à l'acide benzoïque correspondant.

9. Acide para-{2-[N-(3-méthyl 3,3-diphényl propionyl) amino] éthyl} benzoïque :



a) (α-méthylbenzylidène) cyanacétate d'éthyle :

60 g d'acétophénone, 56,6 g de cyanacétate d'éthyle, 7,7 g d'acétate d'ammonium, 24 g d'acide acétique et 100 ml de benzène sont mis à reflux sous agitation et l'eau formée au cours de la réaction est éliminée au fur et à mesure à l'aide d'un Dean Stark.

Après 13 heures 40 de chauffage, 100 ml d'éther sont ajoutés et le mélange reactionnel est lavé par 3 fois 100 ml d'eau. La couche organique est séchée sur sulfate de magnésium, concentrée sous vide de la trompe à

eau et le résidu est distillé. On obtient ainsi 58,4 g d'(α-méthylbenzylidène) cyanacétate d'éthyle ($Eb/_{13\ Pa}$ = 125-128 °C).

b) α-carbéthoxy β,β-diphényl butyronitrile :

A 6,3 g de magnésium en tournures et 240 ml d'éther anhydre, sont ajoutés, sous agitation en 1 heure 20, 41 g de bromobenzène dissous dans 100 ml d'éther anhydre. Après 2 heures de reflux, on ajoute en 30 minutes 51 g d'(α-méthylbenzylidène) cyanacétate d'éthyle dans 150 ml d'éther. Après 5 heures de chauffage, le mélange réactionnel est hydrolysé par 150 ml d'HCl, 2N. La couche organique est décantée. La couche aqueuse est extraite par 2 fois 100 ml d'éther. Les phases éthérées sont réunies, lavées par 100 ml d'eau, séchées sur $MgSO_4$ et après filtration concentrées sous vide de la trompe à eau.

Par distillation du résidu, on obtient 30,7 g du produit attendu ($Eb/_{13\ Pa}$ = 150-155 °C), Rendement : 46 %.

c) α-carboxy β,β-pdiphényl butyronitrile :

15 g d'α-carbéthoxy β,β-diphényl butyronitrile, 65 ml d'éthanol, 18,4 g de potasse en pastilles et 30 ml d'eau sont agités à température ambiante pendant 4 heures. Après concentration sous vide, le résidu est repris par 150 ml d'eau. Après extraction par 3 fois 50 ml d'éther, la couche aqueuse est acidifiée par 22 ml d'HCl concentré et extraite par 3 fois 100 ml d'éther. Les couches organiques sont réunies, séchées sur $MgSO_4$ et évaporées. On obtient 14 g du produit attendu.

d) β,β-diphénylbutyronitrile :

14 g d'α-carboxy β,β-diphénylbutyronitrile et 85 ml de triéthylène glycol sont chauffés pendant 30 minutes à 80 °C, puis, après refroidissement, dilués avec 300 ml d'eau. Par extraction par 3 fois 150 ml d'éther, séchage de la couche organique et concentration sous vide on obtient, après purification par chromatographie, 7,3 g de β,β-diphénylbutyronitrile. Rendement : 64 %.

e) Acide β,β-diphénylbutyrique :

7,2 g du produit obtenu en d), 9,6 ml d'acide sulfurique concentré, 12 ml d'eau et 12 ml d'acide acétique sont maintenus à reflux pendant 22 heures. Après refroidissement et traitement par 90 ml d'eau, le précipité formé est essoré et lavé à l'eau. Après séchage et recristallisation dans 20 ml de cyclohexane, on obtient 6,5 g de l'acide attendu, PF : 100 °C, Rendement : 77 %.

f) chlorure de β,β-diphénylbutyryle :

6,5 g de l'acide précédent sont ajoutés en 15 minutes à 10 ml de chlorure de thionyle. Après chauffage 2 heures à reflux, la solution obtenue est concentrée sous vide et le résidu repris par 2 fois 50 ml de benzène, en évaporant à chaque fois. On obtient alors 6,6 g de chlorure de β,β-diphénylbutyryle.

g) Acide para-{2[N-(3-méthyl 3,3-diphényl propionyl) amino] éthyl} benzoïque :

A une suspension de 5,2 g de chlorhydrate de l'acide para-[β(amino) éthyl] benzoïque dans 200 ml de diméthylformamide anhydre sont ajoutés, sous agitation, 31,5 g de triéthylamine, puis 6,5 g du chlorure obtenu en f) en solution dans 75 ml de THF anhydre sont coulés en 15 minutes. La température s'élève de 26 à 34 °C. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, puis 5 heures à 40 °C, le chlorhydrate de triéthylamine formé est essoré et le filtrat concentré sous vide. Le résidu est repris par 60 ml d'eau. Le précipité formé est essoré, séché à l'air, puis recristallisé dans 50 ml d'isopropanol anhydre. On obtient 5 g d'acide para-{2-[N-(3-méthyl 3,3-diphényl propionyl) amino] éthyl} benzoïque , PF : 211 °C.

Exemple 10 :

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

A. ETUDE DE L'EFFET D'UN TRAITEMENT AIGU ADMINISTRÉ EN PERFUSION PORTALE CHEZ LE RAT VIGILE

1. But de l'expérimentation

La technique de perfusion portale chez le rat vigile permet d'étudier l'effet de substances pharmacologiques sur les modifications de la tolérance au glucose adminstré par voie intraveineuse.

L'injection d'agents directement dans la circulation portale permet d'éviter les effets du transit gastrique, d'absorption et de libération d'hormone par la paroi intestinale et ainsi d'explorer :

- soit un effet direct sur le tissu hépatique,
- soit l'existence d'un relai foie-système nerveux central-tissu périphérique (foie, muscle ou cible endocrine).

2. Protocole

2.1 Animaux utilisés

Dans cette expérimentation, on a utilisé des rats mâles adultes SPRAGUE DAWLEY par lots de 5 à 12 rats.

Les rats utilisés, agés de 52 semaines, présentent

- une diminution de la tolérance au glucose,
- une augmentation de l'insulinémie basale, et
- une augmentation des lipides plasmatiques.

La stabulation (de 9 à 52 semaines) de ces rats a été réalisée dans une pièce à température régulée de 21 à 22 °C et soumise à un cycle fixe de lumière (de 7 h 30 à 19 h 30) et d'obscurité (de 19 h 30 à 7 h 30). Leur alimentation a consisté en un régime d'entretien (UAR A 03) ; eau et nourriture ont été fournies "ad libitum", à l'exception du jeûne nocturne précédant les tests où la nourriture était retirée.

2.2 Méthodes

Préparation chirurgicale :

A J_7 avant le début de l'expérimentation, les rats sont anesthésiés à la kétamine (IMALGENE 1000 - Rhône MERIEUX), et un cathéter en silastic (602-135, médical grade, DOW CORNING MIDLAND) est implanté dans la veine porte hépatique [cf. Strubbe J.H., Wolsink J.G., Schutte A.M., Balkan B., and Prins A.J.A. : Hepatic-portal and cardiac infusion of CKK-8 and glucagon induce different effects on feeding. Physiology and Behavior 46,643-646 (1989)] pour la perfusion du soluté physiologique (jour contrôle) puis du produit à tester. Ils sont alors placés individuellement dans des cages en plexiglas.

- Après récupération, soit environ 10 jours plus tard, un second cathéter en silastic (602-155, médical grad, DOW CORNING MIDLAND) est introduit jusque dans l'oreillette droite par la veine jugulaire droite [cf. Steffens A.B : A Method for frequent sampling of blood and continuous infusion of fluids in the rat without disturbing the animal. Physiology and behavior 4, 833-836 (1969)]. Lors des test, les différents prélèvements sanguins et l'injection intra-cardiaque du bolus glucosé seront effectués à l'aide de ce cathéter.

Pendant les deux interventions chirurgicales, les cathéters sont glissés sous la peau et extériorisés au-dessus de la tête au moyen d'une aiguille limée recourbée et bouchée par un capuchon de polyéthylène (PE) fermé à la bougie.

- 0,4 ml d'une solution d'héparine à 500 U/ml (ROUSSEL UCLAF) suivie de 0,1 ml de PVP (Solution de Polyvinylpyrrolidone à 30 % - PM 25000 - MERCK) sont introduits dans les cathéters avant la fermeture par le capuchon de polyéthylène.
  La viscosité du PVP permet d'éviter un reflux du sang dans le cathéter.
- La veille de chaque expérience, les rats sont soumis à un jeûne nocturne de 18 heures. Le jour de l'expérience, ces rats sont pesés et le bon fonctionnement des cathéters vérifié.
- Afin d'éliminer le stress du branchement des cathéters sur les aiguilles extériorisées sur le dessus de la tête, 20 minutes de repos sont nécessaires avant de commencer l'expérience.
- Les perfusions intraportales, réalisées à l'aide d'un cathéter en polyéthylène N° 3 durent 60 minutes ; elles ont un débit constant de 2 ml/heure soit environ 0,033 ml/minute, assuré par un perfuseur BRAUN. Une épreuve d'IVGTT (test de tolérance au glucose par administration intraveineuse) a lieu 30 minutes après le début de la perfusion portale.
- L'expérience contrôle (test de référence) consiste à perfuser une solution saline (chlorure de sodium isotonique 0,9 % BIOSEDRA) qui permettra pour chaque rat de déterminer la valeur basale de tolérance (K) à une charge glucosée.
- L'insulinorésistance est induite chez le rat normal par une perfusion intraportale d'amyline (IAPP, insulinoma associated pancreatic polypeptide) 26 nmol/kg/h pendant 90 minutes.
- Des prélèvements sanguins de 0,40 ml sont recueillis (cathéter en polyéthylène N° 6) immédiatement avant la perfusion et 30 minutes après le début de la perfusion. Ces échantillons servent à la détermination de la glycémie et de l'insulinémie basales. Immédiatement après le recueil de la basale N° 2, c'est à dire 30 minutes après le début de la perfusion, on administre un bolus glucosé (1 ml/kg d'une solution de glucose à 50 %) dans la veine jugulaire. Une série de prélèvements est ensuite réalisée toute les 3 minutes de t+30 à t+60 minutes après le bolus. Un volume de 0,40 ml est prélevé à chaque fois, et remplacé par 0,40 ml de sérum physiologique hépariné.

Le bon fonctionnement des cathéters est garantie par l'injection de PVP entre chaque expérience.

Recueil des échantillons :

- Pour la détermination de la glycémie, le sang est recueilli sur URAC (solution de déprotéinisation) à raison de 20 µl de sang pour 200 µl d'URAC (dilution au 1/10ème).
- Les échantillons destinés au dosage de l'insulinémie sont recueillis sur héparine (20 µl de sérum physiologique hépariné à 500 UI/ml soit 7,5 UI d'héparine par tube à centrifuger).
- Tous les tubes sont placés dans la glace au moment du recueil des prélèvements. Ces derniers sont ensuite centrifugés 10 minutes à 3000 trs/min (centrifugeuse réfrigérante), pour séparer les éléments figurés dans les plus brefs délais.
- Les sérums (dans l'URAC pour la glycémie) et les plasmas (insulinémie) sont ensuite répartis dans des tubes eppendorf mis au congélateur (-20 °C) jusqu'au jour du dosage.

Procédures analytiques :

Détermination de la glycémie :

Le glucose sanguin est mesuré par la technique de la glucose oxydase à l'aide du kit Boehringer.

- Un contrôle de qualité est assuré par la détermination des valeurs de standards et de contrôles.

Mesure de l'assimilation glucidique :

(cf. Conard v. : Mesure de l'assimilation du glucose, bases théoriques et applications cliniques. Les éditions "acta medica belgica" (1959)).

La vitesse de décroissance de la glycémie après surcharge glucosée est exprimée par le coefficient angulaire K de la droite log c = log A - Kt obtenue sur papier semi-logarithmique en portant le temps (min) en abscisse et le ln [glucose] en ordonnée. Ce coefficient est calculé pour les valeurs de glycémies correspondant aux temps situés entre la 6ème et la 30ème minute après le bolus. Ce calcul est effectué par un ordinateur, à l'aide d'un programme de régression linéaire, après vérification par représentation graphique.

Ce coefficient d'assimilation glucidique est considéré comme une constante, caractéristique d'un sujet donné.

Détermination de l'insulinémie :

- L'insuline plasmatique immunoréactive (IRI) est dosée par une méthode radio-immunologique de kit Phadeseph de PHARMACIA, technique en phase solide d'un double anticorps.
- La détermination des standards et des échantillons est effectuée en double.

Préparation des solutions :

- Pour l'expérience contrôle (test de référence) :
  Perfusion intraportale de chlorure de sodium isotonique 0,9 % (BIOSEDRA)
- Pour la perfusion intraportale du réactif pharmacologique : Une solution mère à 1 mg de produit base par ml d'eau distillée est réalisée et sert à la préparation de la solution finale (dans NaCl 0,9 %).

Résultats

Ils sont répertoriés dans les tableaux Ia et Ib ci-après.

TABLEAU Ia

Rats SDCD mâles 52 semaines	Insulinémie basale µU/ml Variation %	Insulinémie au pic µU/ml Variation %	Insulinémie 30 mn après glucose µU/ml Variation %	Tolérance au glucose $K10^{-2}$ %
Contrôle	24,06 ± 3,03	57,4 ± 13,7	29,0 ± 3,7	2,72 ± 0,23
Benfluorex 7,5 µg/kg/min×60 min	- 42% p<0,05	- 5% NS	- 36% NS	+ 50% p=0,025
Diméthylbiguanide 15 µg/kg/min×60 min	Inactif			
Produit de l'exemple 1				
0,25 µg/kg/min×60 min	- 42% p<0,05	0	- 21% NS	+ 3% NS
0,50 µg/kg/min×60 min	- 6% p<0,001	- 21% NS	- 69% p<0,001	+ 40% p=0,025
0,75 µg/kg/min×60 min	- 25% p=0,05	+ 10% NS	- 36% NS	+ 60% p=0,005

Un cathéter intraportal et un cathéter intracardiaque (oreillette droite) sont implantés chez des rats SDCD agés de 52 semaines. Après récupération post chirurgicale, les différents groupes de rats sont soumis à un jeûne de 18 heures. Les rats sont éveillés pendant l'expérience. Les produits sont administrés par perfusion intraportale pendant 1 heure. Une épreuve d'hyperglycémie provoquée est pratiquée 30 minutes après le début de la perfusion qui se poursuit pendant l'IVGTT.

Tableau Ib

INSULINORÉSISTANCE INDUITE PAR UNE PERFUSION D'AMYLINE INTROPORTALE
(AUX RATS AGÉS DE 12 SEMAINES)

	Insulinémie basale(µU/ml)	Insulinémie au pic (µU/ml)	Insulinémie 24 min après glucose(µU/ml)	Tolérance au glucose $K.10^{-2}$
Controle	5,93±0,48	24,80±1,86	8,86±0,77	3,54±0,24
Perfusion amyline	6,87±0,77	23,54±1,7	15,28±1,90	1,71±0,27
Perfusion amyline + produit de l'exemple 1 (0,75µg/kg/min pendant 60 mn)	8,26±1,15	23,60±2,17	15±1,86	3,79±0,38

B. ETUDE DE L'EFFET D'UN TRAITEMENT CHRONIQUE ADMINSTRÉ PER OS AU RAT SDCD MÂLE AGÉ DE 52 SEMAINES :

1. But de l'expérimentation

Les essais sont réalisés sur des rats qui présentent des anomalies pondérales associées à un hyperinsulisme et une hyperglycéridémie.

Il est recherché :

- d'une part l'effet d'un traitement prolongé du produit de l'exemple 1 et de substances de référence sur ces anomalies, et
- d'autre part, la consommation du glucose par le tissu adipeux est mesuré à l'état basal et en présence d'insuline (10^{-9} M).

2. Protocole

2.1 Animaux utilisés

On utilise des rats identiques à ceux de l'étude du traitement aigu, (cf. ci-dessus le paragraphe A- 2.1), à savoir des rats SDCD mâles agés de 52 semaines.

2.2 Méthodes

9 jours avant le début de l'expérimentation (J_{-9}), sont constitués des lots de rats par randomisation stratifiée sur le poids.

5 jours avant le début de l'expérimentation (J_{-5}), les rats sont conditionnés par administration d'une solution de gomme.

Le premier jour de l'expérimentation (J_1), les produits à tester sont administrés à différentes doses aux rats 2 fois par jour. Plus précisémment, les produits sont administrés en suspension dans la gomme entre 9 et 10 heures et 16-17 heures pendant 14 jours. Une pesée quotidienne des animaux traités est effectuée.

Le 15ème jour, les rats (à jeun depuis 18 heures) sont sacrifiés par décapitation. Le sang est recueilli directement dans une cupule. Un aliquote (50 µl) est transféré dans 500 µl d'acétate d'uranyl pour dosage de la glycémie. Un aliquote de 3 ml est transféré dans un tube contenant une solution d'héparine (30 µl pour 1 ml de sang total) et centrifugé pour séparer le plasma. Un autre aliquote de 300 µl est transféré dans un tube contenant 15 µl d'une solution d'EDTA/NaF pour dosage des lactates.

Le tissu adipeux épididymaire est prélevé pour étude métabolique immédiatement après sacrifice.

Pour chaque animal, deux fragments de tissu épididymaire droit et gauche sont émincés aux ciseaux et répartis dans 6 fioles d'incubation. Trois de ces fioles contenant 500 µl de milieu et les autres 500 µl de milieu additionné d'insuline de porc (10^{-9} M), la production de CO_2 est donc mesurée en triplicate pour chacun des rats de chaque groupe.

2.3 Résultats

Ils sont répertoriés dans le tableau II ci-après.

Tableau II

Traitement Rats SDCD mâles de 52 semaines	Variation pondérale %	Insulinémie basale µU/ml variation %	Glycémie g/l variation %	Tolérance au glucose K 10^{-2} variation %	Triglycéride g/l variation %	Cholestérol g/l variation %	Sérotonine cérébrale
Contrôle	+ 0,4 %	32 ± 2,4	1,06 ± 0,05	3,01 ± 0,24	3,64 ± 0,57	1,1 ± 0,14	
Benfluorex							
1 mg/kg×2	- 2 % (NS)	- 10% NS	- 10% NS	+ 30% p<0,05	- 43 % p=0,025	- 20% NS	Diminuée
2,5 mg/kg×2	- 6 % p=0,85	- 16% NS	- 12% NS	+ 25% p=0,05	- 44 % p=0,05	- 30% NS	Diminuée
Produit de l'exemple 1							
0,5 mg/kg×2	- 1,4 % p=0,005	- 12 % p=0,5	- 5% NS	+ 26 % (NS) p=0,088	- 18 % (NS)	0	non modifiée
1,0 mg/kg×2	- 1,9 % p=0,005	- 20 % p=0,2	+ 10% NS	+ 41 % p=0,064	- 38 %	- 8 % (NS)	non modifiée
2,5 mg/kg×2	- 3,6 % p=0,005	- 41 % p=0,005	- 10% NS	+ 59 % p=0,025	- 50 % p=0,01	- 34 % p=0,025	non modifiée

C- ETUDE DE L'OXYDATION DES LDL IN VITRO

Une étude comparative entre le produit de l'exemple 1 et les substances de référence (Benfluorex, Diméthylbiguanide) sur l'oxydation des LDL in vitro a été réalisée.

Les résultas sont répertoriés dans le tableau III ci-après.

Tableau III

	Oxydation des LDL in vitro		Incorporation d'oléate dans les esters de cholestérol
	par le cuivre	par les monocytes	
Benfluorex	Inactif à 10^{-4} M	Inactif à 10^{-4} M	- 30 % à 10^{-5} M
Diméthylbiguamide 10^{-4} M	Inactif à 10^{-4} M	Inactif à 10^{-4} M	Inactif à 10^{-5} M
Produit de l'exemple 1	$IC_{50} = 10^{-5}$ M	$IC_{50} = 10^{-5}$ M	- 70 % à 10^{-5} M

D- RECHERCHE D'UN EFFET HYPOTENSEUR CHEZ LE CHIEN ÉVEILLÉ

La pression artérieile a été mésurée par brassard externe (Sphygmotensiomètre) au niveau de la queue du chien, avant et après traitement avec le produit de l'exemple 1 à la dose de 5 mg/kg P.O.

Les résultats sont répertoriés dans le tableau IV ci-après.

Tableau IV

Produit testé	Animal traité (nombre : n)	Diminution de la pression artérielle (PA)	
		PA Systolique	PA Diastolique
Produit de l'exemple 1 (5 mg/kg P.O)	chien (n = 4)	$-2{,}4.10^3$ Pa à $-3{,}6.10^3$ Pa	-3.10^3 Pa à -5.10^3 Pa

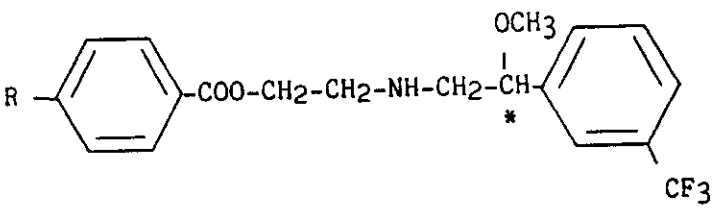
E. CONCLUSION

Les résultats des études ci-dessus décrites montrent l'intérêt pharmacologique et thérapeutique de l'isomère lévogyre du chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthyl amino] éthyle (produit particulièrement représentatif des dérivés de la présente invention) et l'originalité et la supériorité de ce dernier vis à vis de substances de référence reconnues comme spécifiquement adaptées aux traitements concernés.

Revendications

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

1. Les composés de benzoate d'éthanolamine de formule générale I :

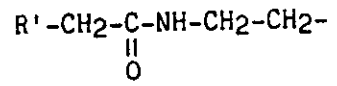


(I)

dans laquelle :

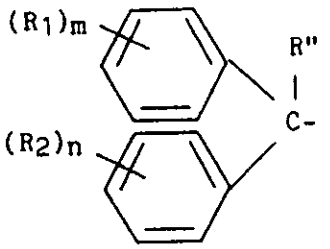
R représente :

- un atome d'hydrogène, ou
- un groupe de formule :



dans laquelle R' représente :

a) soit un radical de formule :

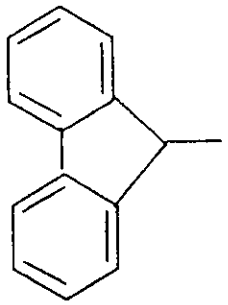


dans laquelle :

R" représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée,

R_1 et R_2, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, et m et n identiques ou différents représentent chacun 1, 2 ou 3 ;

b) soit un radical fluorényle de formule :



sous forme de composé racémique ou d'énantiomères.

2. Les sels physiologiquement tolérables des composés de la revendication 1 avec des acides appropriés.

3. Le l chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

4. Le d chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

5. Le dl chlorhydrate de para-[2-(α-fluorén-9-yl acétyl amino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

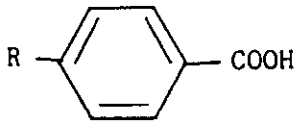
6. Le l chlorhydrate de para-[2-(benzhydrylacétylamino) éthyl] benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

7. Le dl chlorhydrate du benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

8. Le l chlorhydrate du benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

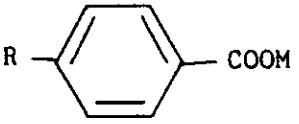
9. Le d chlorhydrate du benzoate de 2-[(β-méthoxy β-métatrifluorométhylphényl) éthylamino] éthyle.

10. Le procédé de préparation des composés de la revendication 1 caractérisé en ce que :
- l'on transforme l'acide de formule générale II :



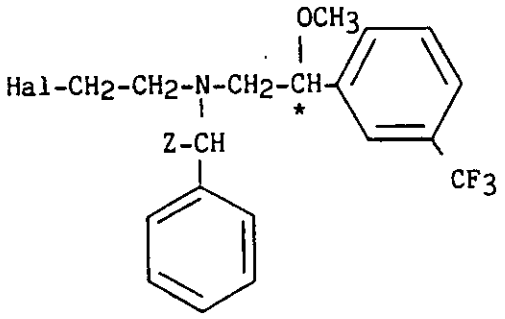
(II)

dans laquelle R a la signification définie dans la revendication 1, en un sel de formule générale II' :



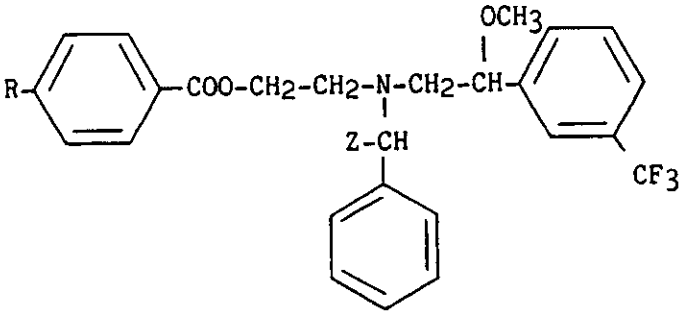
(II')

dans laquelle R est tel que ci-dessus défini et M est un métal alcalin ou alcalino-terreux ;
- l'on fait réagir ce dernier avec un composé halogéné de formule générale III :



(III)

dans laquelle
- Z représente un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, et
- Hal représente un atome d'halogène ;
- et l'on débenzyle catalytiquement le composé ainsi obtenu de formule générale IV :



(IV)

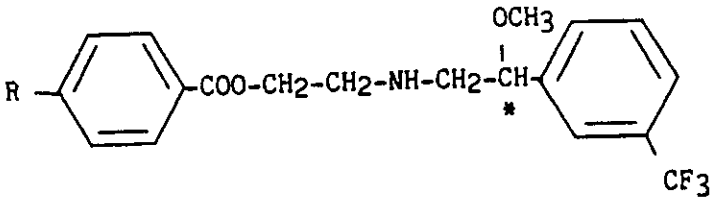
dans laquelle R et Z sont tels que précédemment définis.

11. Les compositions pharmaceutiques contenant comme principe actif un composé selon les revendications 1 à 9 avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiques appropriés.

12. Les compositions pharmaceutiques selon la revendication 11 présentées sous une forme convenant notamment dans le traitement du diabète, de l'obésité, du syndrome d'insulinorésistance, "Syndrome X", secondaire ou non à une hyperamylinémie associant une diminution de la tolérance au glucose, hyperinsulinémie, dyslipémie et hypertension, et dans le traitement de l'hypertension chez les sujets insulinorésistants ou ayant une ou plusieurs anomalies métaboliques.

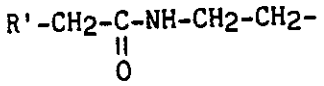
Revendication pour les Etats contractants suivants : ES, GR

1. Procédé de préparation des composés de benzoate d'éthanolamine de formule générale I :

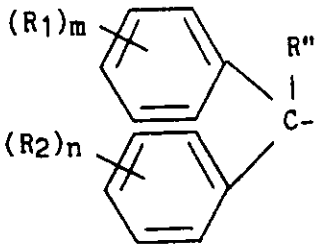


(I)

dans laquelle :
R représente :
- un atome d'hydrogène, ou
- un groupe de formule :

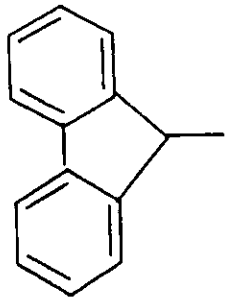


dans laquelle R' représente :
a) soit un radical de formule :



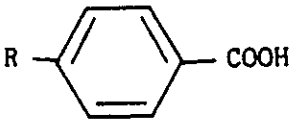
dans laquelle :
R" représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle contenant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée,
R_1 et R_2, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, et m et n identiques ou différents représentent chacun 1, 2 ou 3 ;

b) soit un radical fluorényle de formule :



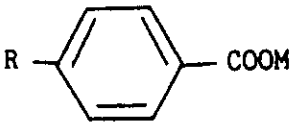
sous forme de composé racémique et d'énantiomères,
et de leurs sels physiologiquement tolérables avec des acides appropriés.
caractérisé en ce que :

- l'on transforme l'acide de formule générale II :



(II)

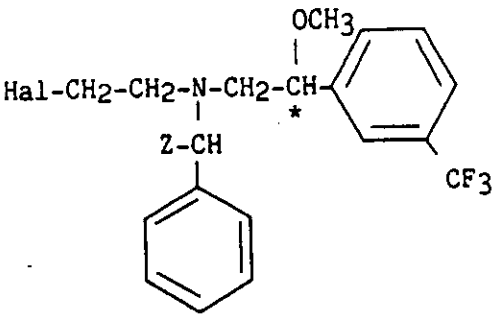
dans laquelle R a la signification précédemment définie,
en un sel de formule générale II' :



(II')

dans laquelle R est tel que ci-dessus défini et M est un métal alcalin ou alcalino-terreux ;

- l'on fait réagir ce dernier avec un composé halogéné de formule générale III :

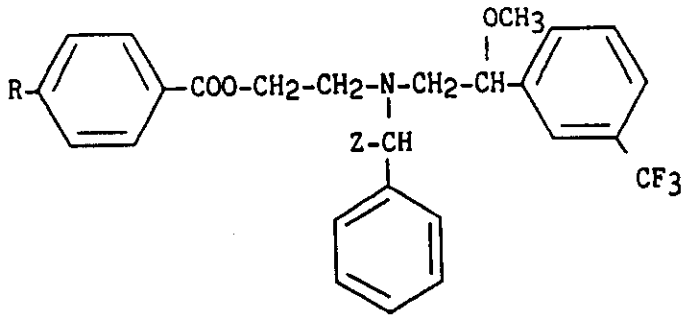


(III)

dans laquelle

- Z représente un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, et
- Hal représente un atome d'halogène ;

- et l'on débenzyle catalytiquement le composé ainsi obtenu de formule générale IV :



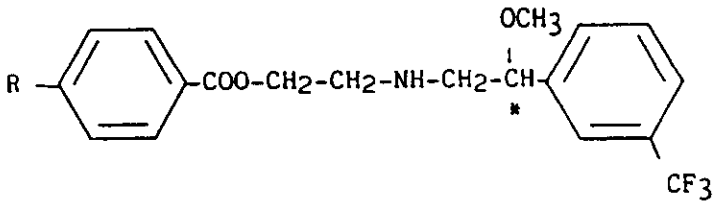
(IV)

dans laquelle R et Z sont tels que précédemment définis,
et si on le désire, les composés de formule I ainsi obtenus sont traités avec des acides physiologiquement tolérables pour donner les sels d'addition acides correspondants.

Claims

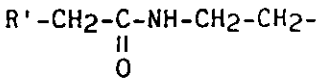
Claims for the following Contracting States : AT, BE, CH, DE, DK, FR, GB, IT, LI, LU, NL, PT, SE

1. Ethanolamine benzoate compounds of the general formula I:

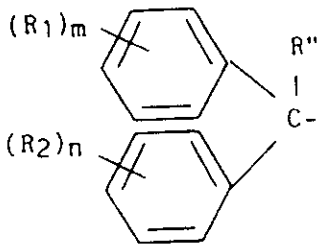


(I)

wherein:
R represents:
- a hydrogen atom or
- a group of the formula:



wherein R' represents:
a) either a radical of the formula:

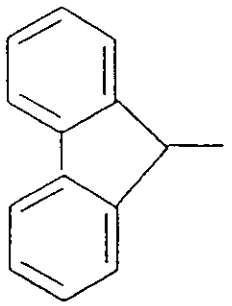


wherein:
R" represents a hydrogen atom or an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain,

each of R_1 and R_2, which may be identical or different, represents a hydrogen atom or an alkyl or alkoxy radical each having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, and

each of m and n, which may be identical or different, represents 1, 2 or 3;

b) or a fluorenyl radical of the formula:



in the form of racemic compounds or enantiomers.

2. The physiologically tolerable salts of the compounds of claim 1 with appropriate acids.

3. l-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl] benzoate hydrochloride.

4. d-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)-ethyl] benzoate hydrochloride.

5. dl-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)-ethyl] benzoate hydrochloride.

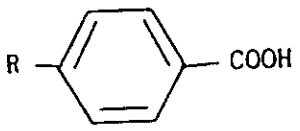
6. l-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(benzhydrylacetylamino)ethyl] benzoate hydrochloride.

7. dl-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.

8. l-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.

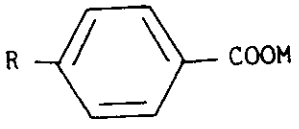
9. d-2-[(β-methoxy-β-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.

10. Process for the preparation of the compounds of claim 1, characterised in that:
- the acid of the general formula II:



(II)

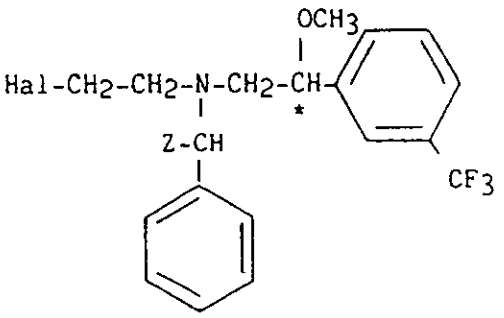
wherein R is as defined in claim 1, is converted into a salt of the general formula II':



(II')

wherein R is as defined above and M is an alkali metal or an alkaline earth metal;

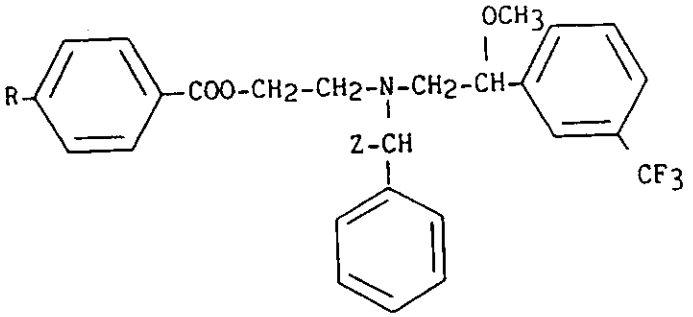
- the latter is reacted with a halogenated compound of the general formula III:



(III)

wherein

- Z represents a hydrogen atom or a methyl radical, and
- Hal represents a halogen atom;
- and the compound so obtained of the general formula IV:



(IV),

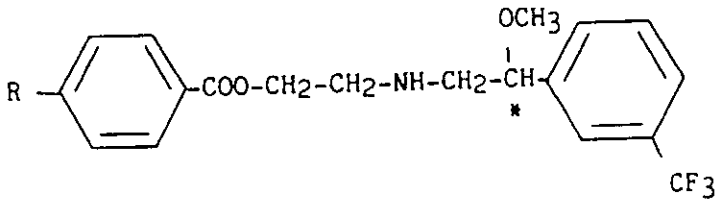
wherein R and Z are as defined above, is debenzylated catalytically.

11. Pharmaceutical compositions containing as active ingredient a compound according to claims 1 to 9 with one or more appropriate pharmaceutical excipients.

12. Pharmaceutical compositions according to claim 11 presented in a form suitable especially for the treatment of diabetes, obesity, insulin resistance syndrome, "Syndrome X", secondary or otherwise to hyperamylinaemia involving a reduction in glucose tolerance, hyperinsulinaemia, dyslipidaemia and hypertension, and for the treatment of hypertension in insulin-resistant subjects or subjects having one or more metabolic anomalies.

Claims for the following Contracting States : ES, GR

1. Process for the preparation of ethanolamine benzoate compounds of the general formula I:

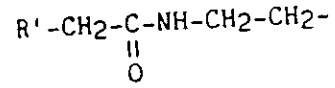


(I)

wherein:

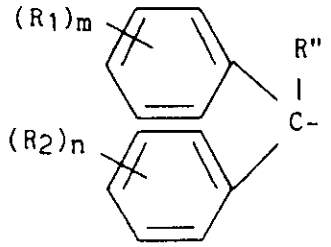
R represents:

- a hydrogen atom or
- a group of the formula:



wherein R' represents:

a) either a radical of the formula:



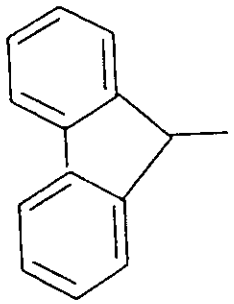
wherein:

R" represents a hydrogen atom or an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain,

each of R_1 and R_2, which may be identical or different, represents a hydrogen atom or an alkyl or alkoxy radical each having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, and

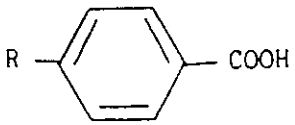
each of m and n, which may be identical or different, represents 1, 2 or 3;

b) or a fluorenyl radical of the formula:



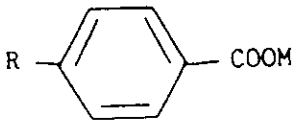
in the form of racemic compounds or enantiomers,
and their physiologically tolerable salts with appropriate acids,
characterised in that:

- the acid of the general formula II:



(II)

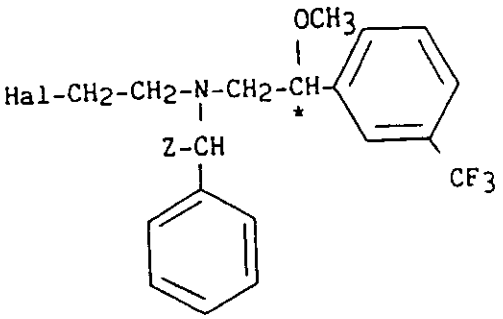
wherein R is as defined above, is converted into a salt of the general formula II':



(II')

wherein R is as defined above and M is an alkali metal or an alkaline earth metal;

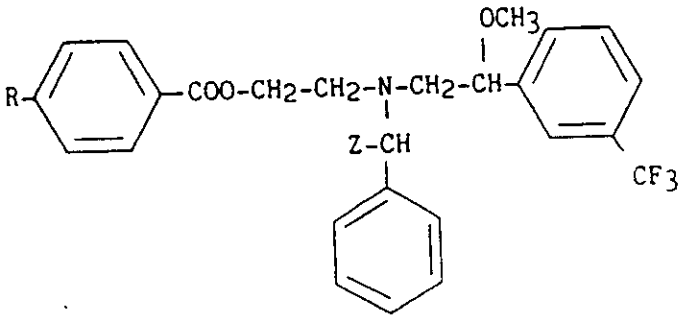
- the latter is reacted with a halogenated compound of the general formula III:



(III)

wherein

- Z represents a hydrogen atom or a methyl radical, and
- Hal represents a halogen atom;
- and the compound so obtained of the general formula IV:



(IV),

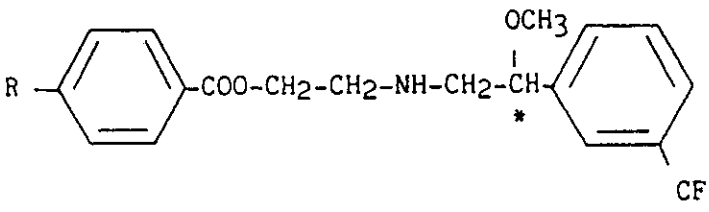
wherein R and Z are as defined above, is debenzylated catalytically,

and, if desired, the compounds of formula I so obtained are treated with physiologically tolerable acids to give the corresponding acid addition salts.

Patentansprüche

Patentansprüche für folgende Vertragsstaaten : AT, BE, CH, DE, DK, FR, GB, IT, LI, LU, NL, PT, SE

1. Benzoesäureethanolaminester-Verbindungen der allgemeinen Formel I:

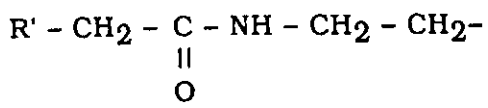


(I)

in der:

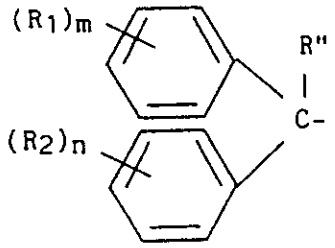
R:

- ein Wasserstoffatom oder
- eine Gruppe der Formel:



In der R':

a) entweder eine Gruppe der Formel:

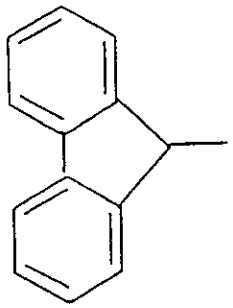


in der:

R'' ein Wasserstoffatom oder eine Alkylgruppe mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen In gerader oder verzweigter Kette,

R_1 und R_2, die gleichartig oder verschieden sind, jeweils ein Wasserstoffatom oder eine Alkyl- oder Alkoxy-gruppe mit jeweils 1 bis 5 Kohlenstoffatomen in gerader oder verzweigter Kette und m und n, die gleichartig oder verschieden sein können, jeweils 1, 2 oder 3 darstellen;

b) oder eine Fluorenylgruppe der Formel:



bedeuten, in Form der racemischen Verbindung oder der Enantiomeren.

2. Physiologisch verträgliche Salze der Verbindungen nach Anspruch 1 mit geeigneten Sauren.

3. l-p-[2-(α-Fluoren-9-yl-acetylamino)-ethyl]-benzoesäure-2-[[β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

4. d-p-[2-[α-Fluoren-9-yl-acetylamino)ethyl]-benzoesäure-2-[(β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

5. dl-p-[2-(α-Fluoren-9-yl-acetylamino)-ethyl]-benzoesaure-2-[(β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]ethylester-hydrochlorid.

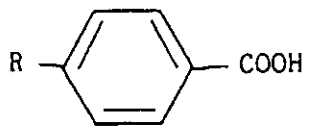
6. l-p-[2-(Benzhydrylacetylamino)-ethyl]-benzoesäure-2-[(β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

7. dl-2-[[β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

8. l-2-[(β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

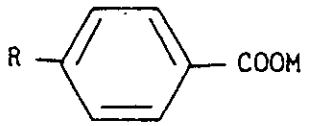
9. d-2-[(β-methoxy-β-m-trifluormethylphenyl)-ethylamino]-ethylester-hydrochlorid.

10. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man:
- die Saure der allgemeinen Formel II:



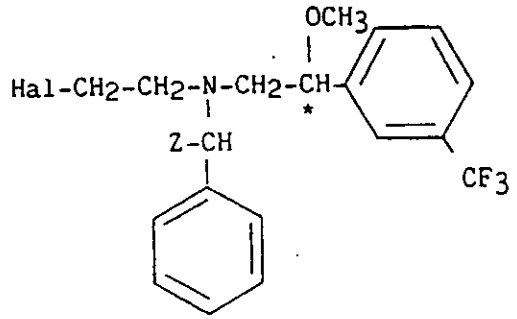
(II)

in der R die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzt, in ein Salz der allgemeinen Formel II':



(II')

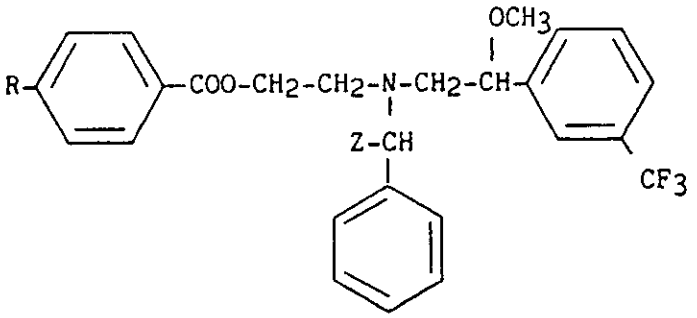
in der R die oben angegebenen Bedeutungen besitzt und M ein Alkalimetall oder ein Erdalkalimetall darstellt, umwandelt:
- dieses mit einer Halogenverbindung der allgemeinen Formel III:



(III)

in der
- Z ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe und
- Hal ein Halogenatom darstellen,

umsetzt; und
- die in dieser Weise erhaltene Verbindung der allgemeinen Formel IV:



(IV)

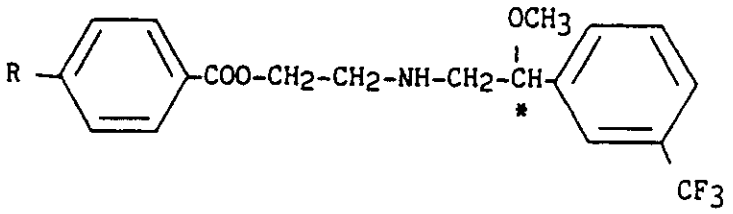
in der R und Z die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, katalytisch debenzyliert.

11. Pharmazeutische Zubereitungen enthaltend als Wirkstoff eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch geeigneten Trägermaterialien.

12. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 11 in einer Form, die insbesondere bei der Behandlung des Diabetes, der Fettsucht, des Insulinresistenzsyndroms, des "Syndroms X", das gegebenenfalls eine Folge einer Hyperamylinämie ist, die mit einer Verminderung der Verträglichkeit für Glucose, einer Hyperinsulinämie, einer Dyslipidämie und der Hypertension verknüpft ist, und zur Behandlung der Hypertension bei insulinresistenten Patienten oder solchen, die eine oder mehrere Stoffwechselanomalien aufweisen, geeignet ist.

Patentanspruch für folgende Vertragsstaaten : ES, GR

1. Verfahren zur Herstellung von Benzoesäureethanolaminester-Verbindungen der allgemeinen Formel I:

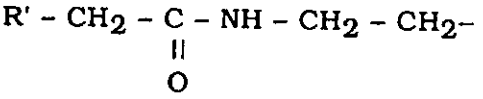


(I)

in der:

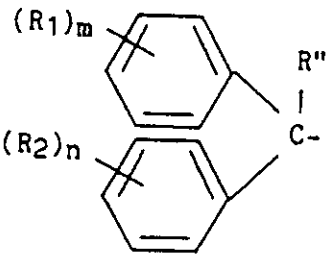
R:

- ein Wasserstoffatom oder
- eine Gruppe der Formel:



in der R':

a) entweder eine Gruppe der Formel:

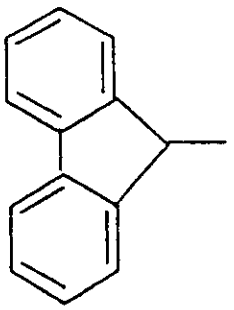


in der:

R" ein Wasserstoffatom oder eine Alkylgruppe mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen in gerader oder verzweigter Kette,

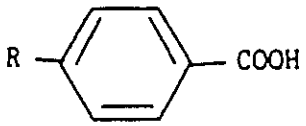
R_1 und R_2, die gleichartig oder verschieden sind, jeweils ein Wasserstoffatom oder eine Alkyl- oder Alkoxygruppe mit jeweils 1 bis 5 Kohlenstoffatomen in gerader oder verzweigter Kette und m und n, die gleichartig oder verschieden sein können, jeweils 1, 2 oder 3 darstellen;

b) oder eine Fluorenylgruppe der Formel:



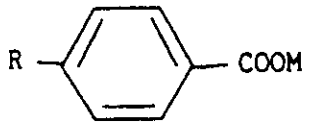
bedeuten, in Form der racemischen Verbindung oder der Enantiomeren,
und von deren physiologisch verträglichen Salzen mit geeigneten Säuren, **dadurch gekennzeichnet**, daß man:

- die Säure der allgemeinen Formel II:



(II)

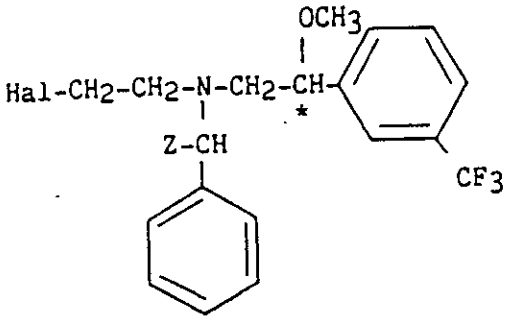
in der R die obenangegebenen Bedeutungen besitzt, in ein Salz der allgemeinen Formel II':



(II')

in der R die oben angegebenen Bedeutungen besitzt und M ein Alkalimetall oder ein Erdalkallmetall darstellt, umwandelt:

- dieses mit einer Halogenverbindung der allgemeinen Formel III:



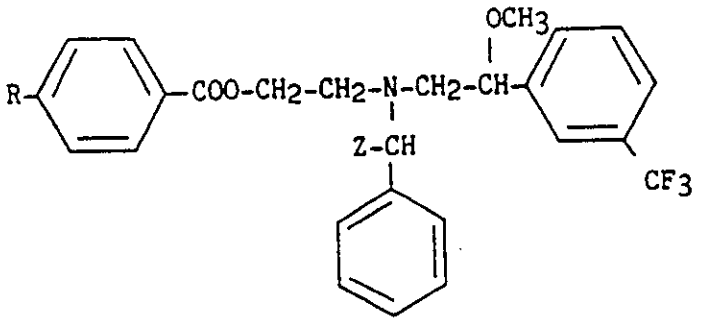
(III)

in der

- Z ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe und
- Hal ein Halogenatom darstellen,

umsetzt; und

- die in dieser Weise erhaltene Verbindung der allgemeinen Formel IV:



(IV)

in der R und Z die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, katalytisch debenzyliert,
und gewünschtenfalls die in diese Weise erhaltenen Verbindungen der Formel I mit physiologisch verträglichen Säuren behandelt zur Bildung der entsprechenden Säureadditionssalze.

For official use

RECEIVED IN
13 MAR 1995
EUROPEAN TRANSLATIONS

09MAR95 E116177-6 000001
P54/7700 35.00

Your reference

AJC/JVC

Notes
Please type, or write in dark ink using CAPITAL letters.

A prescribed fee is payable with this form. For details, please contact the Patent Office (telephone 071–438 4700).

Paragraph 1 of Schedule 4 to the ...ents Rules 1990 governs the completion and filing of this form.

This form must be filed in duplicate and must be accompanied by a translation into English, in duplicate, of:

- *the whole description*
- *those claims appropriate to the UK (in the language of the proceedings)*

including all drawings, whether or not these contain any textual matter but excluding the front page which contains bibliographic information. The translation must be verified to the satisfaction of the Comptroller as corresponding to the original text.

THE PATENT OFFICE
- 7 MAR 1995
RECEIVED BY HAND

The Patent Office

Filing of translation of European Patent (UK) under Section 77(6)(a)

Form 54/77 **Patents Act 1977**

❶ European Patent number

1 Please give the European Patent number: 0 518 769

❷ Proprietor's details

2 Please give the full name(s) and address(es) of the proprietor(s) of the European Patent (UK):

Name: Adir et Compagnie,

Address: 1 rue Carle Hébert,
F-92415 Courbevoie Cedex,
France.

Postcode

ADP number (if known):

❸ European Patent Bulletin date

3 Please give the date on which the mention of the grant of the European Patent (UK) was published in the European Patent Bulletin or, if it has not yet been published, the date on which it will be published:

Date: 07 12 94

(day month year)

Please turn over ➪

08SDC26.

❹ Agent's details

4 Please give name of agent *(if any)*: ABEL & IMRAY

❺ *An address for service in the United Kingdom must be supplied.*

❺ Address for service

5 Please give a name and address in the United Kingdom to which all correspondence will be sent:

Name: Messrs. Abel & Imray,

Address: Northumberland House,
303-306 High Holborn,
London,

Postcode: WC1V 7LH.

ADP number *(if known)*

Signature

Please sign here ➡

Signed: Abel & Imray

Date: 06 (day) 03 (month) 95 (year)

Reminder

Have you attached:

- ❑ *one duplicate copy of this form?*
- ❑ *two copies of the translation including any drawings (verified to the satisfaction of the Comptroller)?*
- ❑ *any continuation sheets (if appropriate)?*

IN THE MATTER OF

European Patent (UK) No. 0 518 769

I, LOUISE MAY KEILLER, M.A., M.I.L., employed as a translator by Abel & Imray, Chartered Patent Agents, of Northumberland House, 303-306 High Holborn, London WC1V 7LH, do hereby declare that I am the translator of European Patent Specification No. 0 518 769 and certify that the following is a true translation to the best of my knowledge and belief.

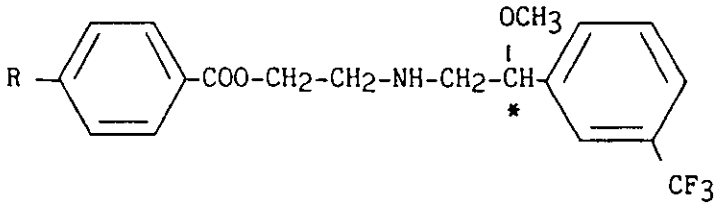
Louise M. Keiller

Louise M. Keiller

Dated this 3rd day of March, 1995.

The present invention relates to new ethanolamine benzoate compounds, a process for their preparation and pharmaceutical compositions containing them.

It relates especially to ethanolamine benzoate compounds of the general formula I :

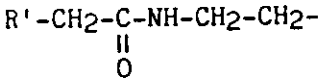


(I)

wherein :

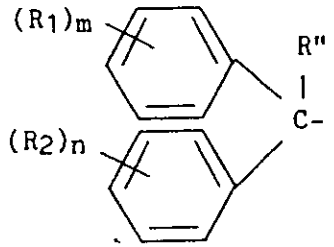
R represents :

- a hydrogen atom or
- a group of the formula :



wherein R' represents :

a) either a radical of the formula :



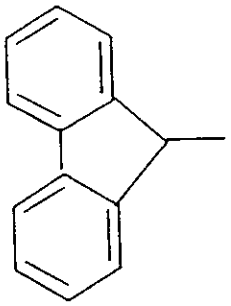
wherein :

R" represents a hydrogen atom or an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain,

each of R_1 and R_2, which may be identical or

different, represents a hydrogen atom or an alkyl or alkoxy radical each having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, and
each of m and n, which may be identical or different, represents 1, 2 or 3;

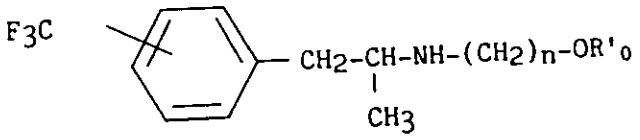
b) or a fluorenyl radical of the formula :



in the form of racemic compounds or enantiomers.

The prior art is illustrated especially :

- by French patents 1 517 587 and 6564 M which respectively relate to :
  - compounds of the formula:



wherein :
- n represents, inter alia, the value 2, and
  - R'_0 represents a hydrogen atom or a group $COR"_0$, $R"_0$ being, inter alia, an optionally substituted phenyl radical, and
  - the use of compounds A as medicaments in the treatment especially of obesity, pain and epilepsy ; and

- by US-A-4 237 165 which relates to pharmaceutical

compositions comprising 1-(3-trifluoromethylphenyl)-2-(ß-hydroxyethyl)aminopropane, 1-(3-trifluoromethylphenyl)-2-(ß-benzoyloxyethyl)aminopropane or benfluorex (INN), which can be used in the treatment of disorders of the metabolism,

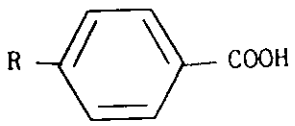
- by FR-A-1 570 822 which relates to sulfamylbenzoic acid compounds as new chemical products, and finally

- by GB-A-1 112 526 which relates to alkoxytrifluoromethylphenalkylamines having an anti-emetic, sedative and nicotine-antagonistic activity.

Substantial structural modifications have resulted in the compounds of formula I of the present invention, which compounds regulate the metabolism of glucides and lipids and counter the oxidation of LDLs but have no effect on the level of cerebral serotonin, which is not true of the compounds of the prior art mentioned above which are inactive with respect to the oxidation of LDLs and do modify the level of cerebral serotonin, as demonstrated by the pharmacological study described in Example 10.

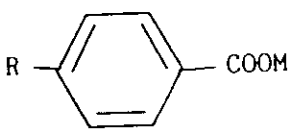
The present invention also relates to a process for the preparation of compounds of the general formula I which is characterised in that :

- the acid of the general formula II :



(II)

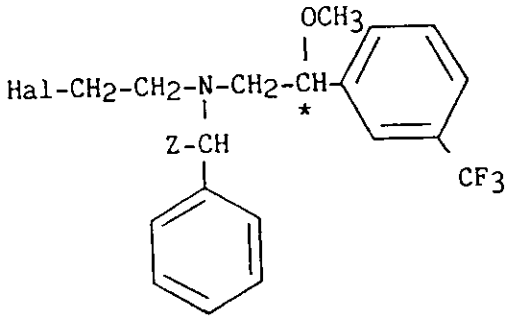
wherein R is as defined above, is converted into a salt of the general formula II' :



(II')

wherein R is as defined above and M is an alkali metal or an alkaline earth metal ;

- the latter is reacted with a halogenated compound of the general formula III :

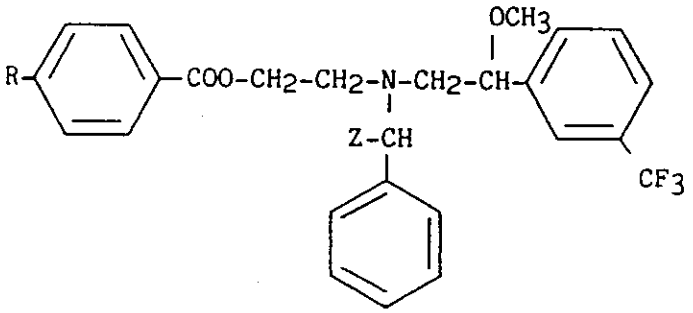


(III)

wherein :

- Z represents a hydrogen atom or a methyl radical, and
- Hal represents a halogen atom, such as a chlorine, bromine or iodine atom ;

and the compound so obtained of the general formula IV :



(IV)

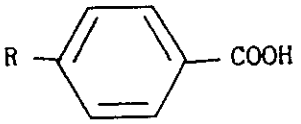
wherein R and Z are as defined above, is debenzylated catalytically.

The compounds of the general formula III wherein Z represents a hydrogen atom result in racemic compounds IV.

The compounds of the general formula III wherein Z

represents a methyl radical result either in racemic compounds IV or in laevorotatory or dextrorotatory enantiomers depending on whether the α-methylbenzyl group bonded to the nitrogen atom is RS, S or R, respectively.

Certain starting materials of the general formula II

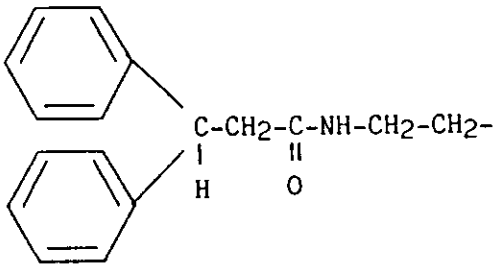


(II)

are known.

This is true of acids of the general formula II wherein R represents :

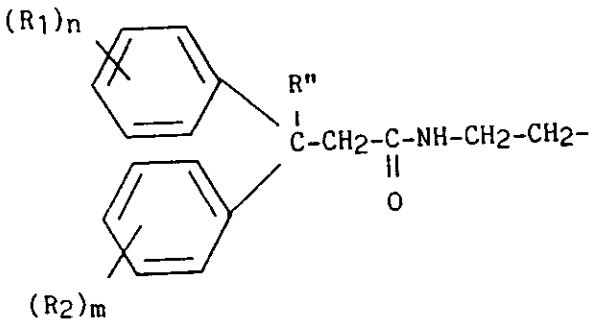
- either a hydrogen atom (in which case the compound II is benzoic acid which is a commercial product)
- or a group :



cf : European Journal of Pharmacology (1987, 141-2, 243-251 ;

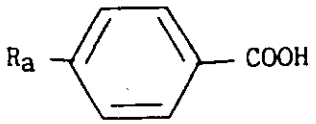
- or the fluoren-9-ylacetylaminoethyl radical, cf : US Patent 4 136 197.

In the other cases, that is to say when R represents a group :



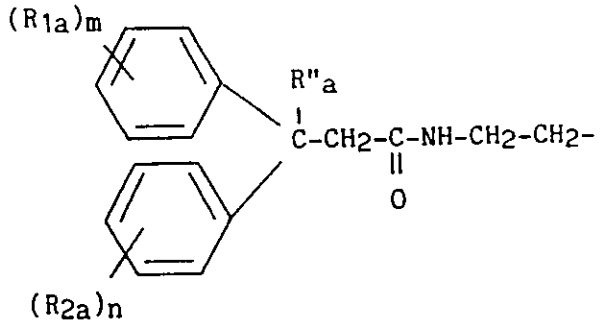
wherein R_1, R_2, R", n and m are as defined above but, in addition, R_1, R_2 and R" do not simultaneously represent a hydrogen atom, the corresponding compounds II are new products which, as such, form part of the present invention.

There are thus included in the present invention, as new starting materials that can be used for the synthesis of compounds of the general formula I - which can themselves be used as medicaments - compounds II corresponding more specifically to the general formula IIa :



(IIa)

wherein R_a represents a group of the general formula A :



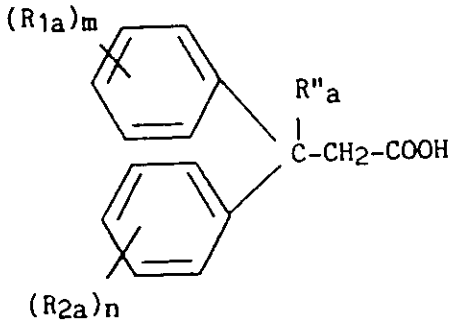
(A)

wherein :

- m and n are as defined above,
- $R"_a$ represents a hydrogen atom or an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain,
- R_{1a} and R_{2a}, which are the same or different, each represents a hydrogen atom or an alkyl or alkoxy radical each having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, with the proviso, however, that R_{1a}, R_{2a} and R"a do not

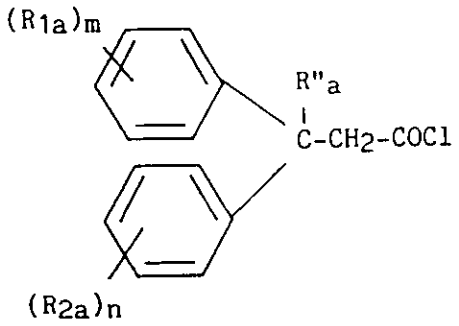
simultaneously represent a hydrogen atom.

The compounds II that are new were prepared by converting acids of the general formula V :

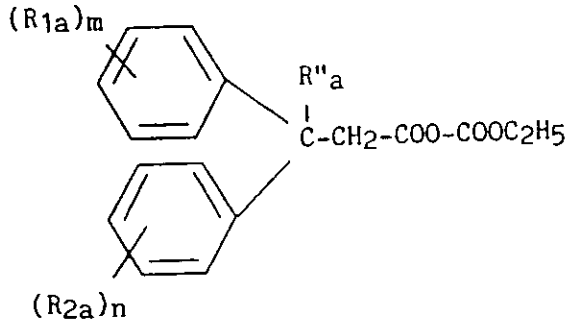


(V)

wherein R''_a, R_{1a}, R_{2a}, m and n are as defined above, into an acid chloride or mixed anhydride of the general formula V_a or V_b respectively :



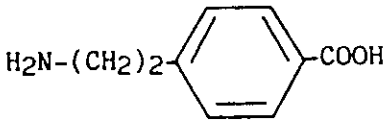
(V_a)



(V_b)

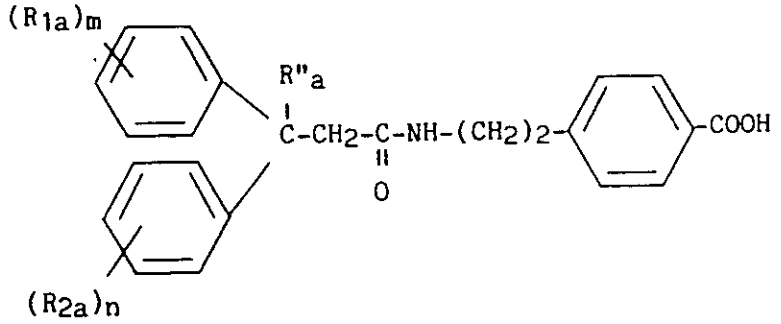
which are condensed

a) either with an amino acid of formula VIa :



(VIa)

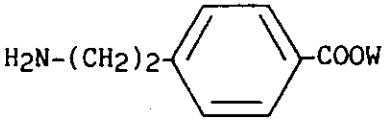
to obtain a compound of formula IIa directly, a formula which can be drawn more precisely as follows :



(IIa)

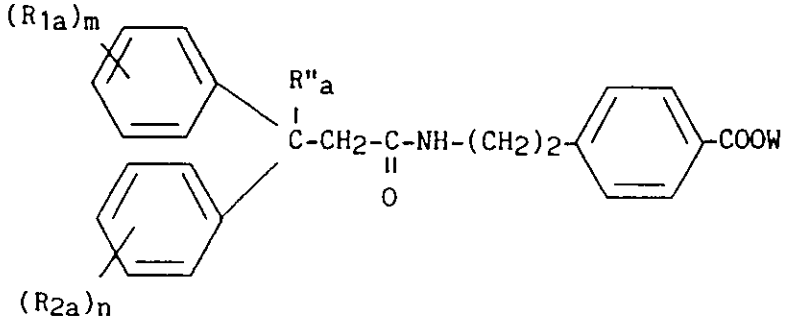
wherein R''_a, R_{1a}, R_{2a}, m and n are as defined above,

b) or with an amino ester of formula VIb :



(VIb)

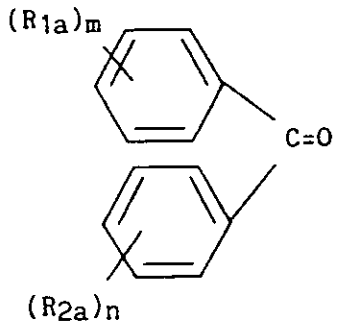
wherein W is an alkyl radical having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, to yield a compound of the general formula II'a :



(II'a)

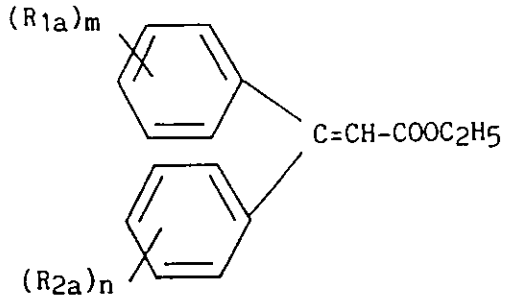
wherein R''_a, R_{1a}, R_{2a}, m, n and W are as defined above, which is hydrolysed to form an acid of formula IIa.

Where R''_a represents a hydrogen atom, the corresponding acids V were themselves obtained by HORNER reaction between the ketone of formula B :



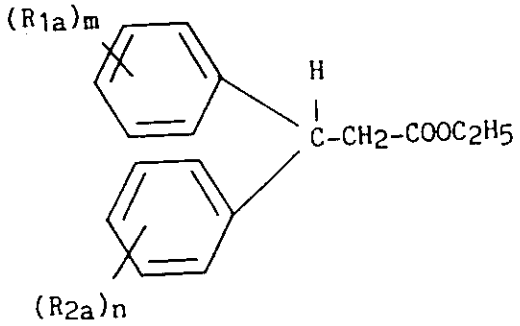
(B)

and the ethyl phosphonoacetate $[(C_2H_5O)_2OP-CH_2-COOC_2H_5]$, followed by catalytic hydrogenation of the resulting compound of formula C :



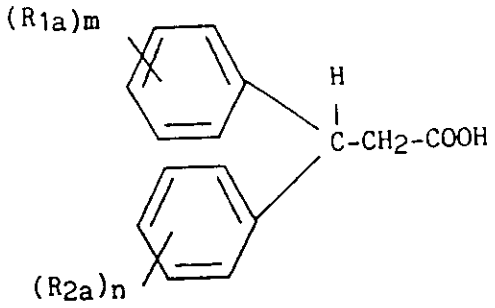
(C)

to yield the ester of formula D :



(D)

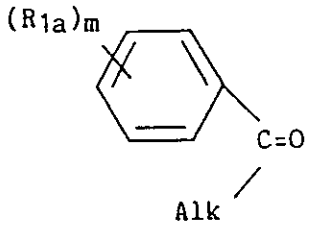
which is then hydrolysed to form the corresponding acid of formula E :



(E)

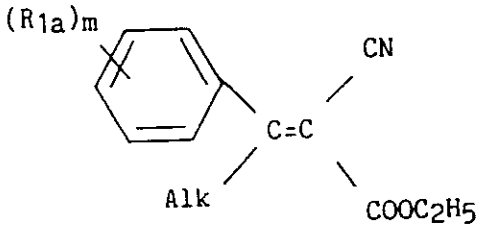
(R_{1a}, R_{2a}, m and n in each of the formulae being as defined above), that is to say to form acid V wherein R" represents a hydrogen atom.

Where $R"_a$ represents an alkyl radical having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, the corresponding acids V were themselves obtained by COPE condensation between the ketone of formula B' :



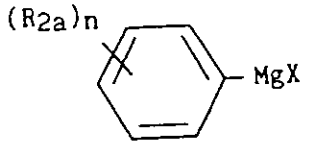
(B')

(wherein R_{1a} and m are as defined above and Alk represents an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain) and ethyl cyanoacetate ($NC-CH_2-COOC_2H_5$) in toluene, in the presence of acetic acid and ammonium acetate to yield the ethylene compound of formula F :



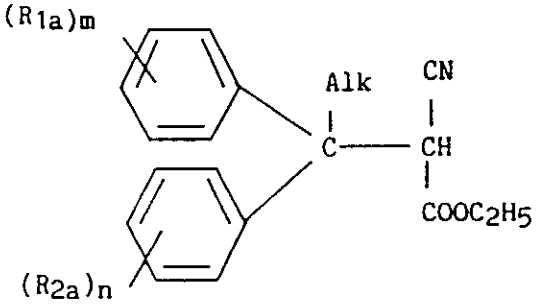
(F)

which is then subjected to the action of an organomagnesium compound of formula G :



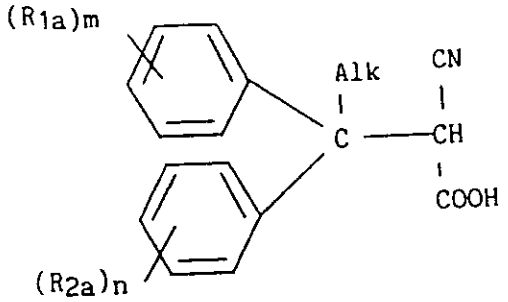
(G)

(R_{2a} and n being as defined above and X being a halogen atom)
to yield the compound of formula H :



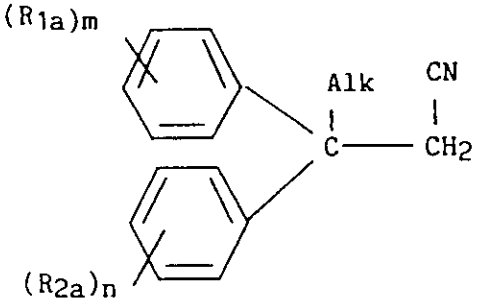
(H)

(wherein R_{1a}, R_{2a}, m, n, and Alk are as defined above), which compound H is hydrolysed to form the acid of formula J :



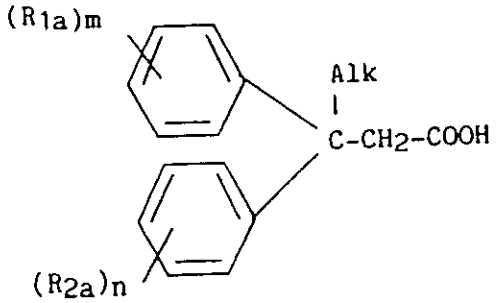
(J)

which is decarboxylated to yield the nitrile of formula K :



(K)

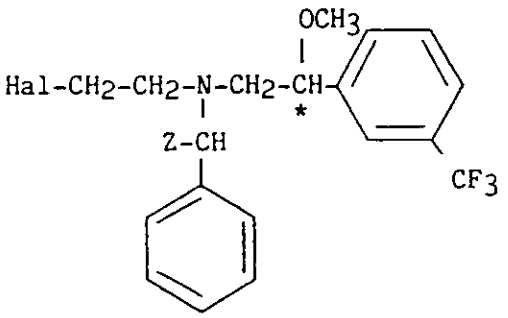
which is in turn hydrolysed to form the desired acid of formula L :



(L)

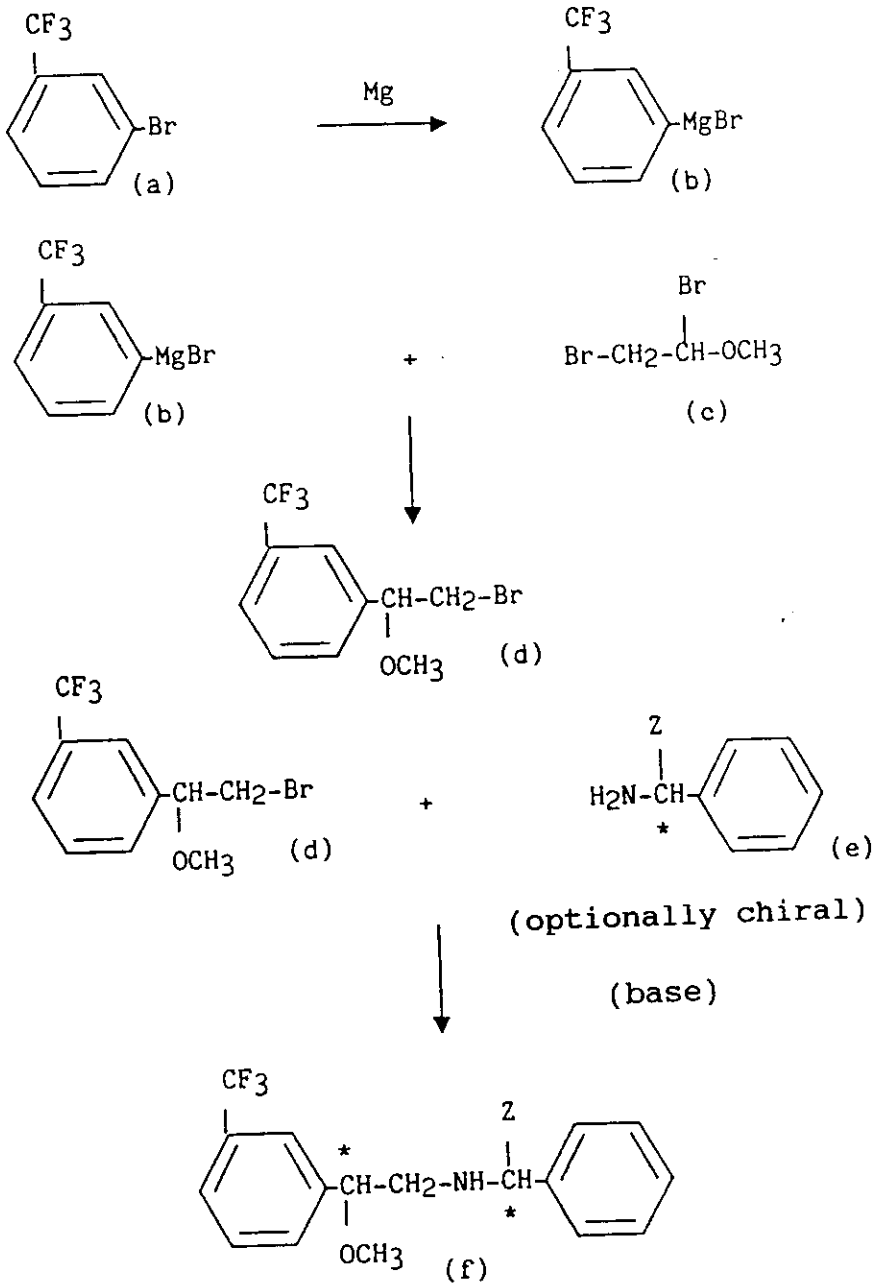
(wherein R_{1a}, R_{2a}, m, n and Alk are as defined above); that is to say to form an acid of formula V wherein R''_a represents an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain.

The starting materials of the general formula III :



(III)

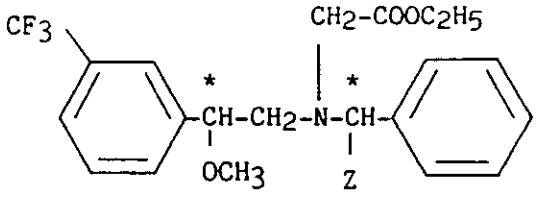
wherein Hal and Z are as defined above, were obtained in accordance with the following reaction procedure :



and the latter is recrystallised in the form of the hydrochloride. Where Z represents a methyl radical, depending on whether the starting α-methylbenzylamine is R or S, the hydrochloride of compound (f) is obtained by

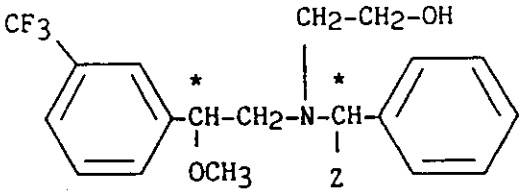
recrystallisation in the form of one or the other diastereoisomer.

The benzylated amine of formula f (optionally in pure diastereoisomer form) is then alkylated by means of ethyl bromoacetate in the presence of a base, such as potassium carbonate, to obtain the compound of formula g :



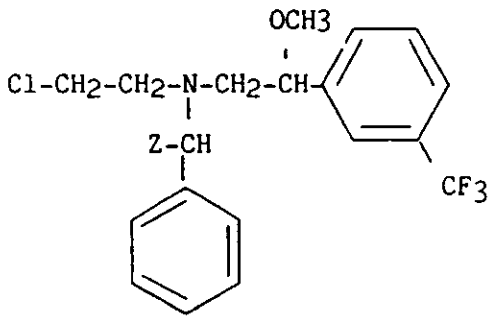
(g)

which is then reduced with $LiAlH_4$ to form the alcohol of formula h :



(h)

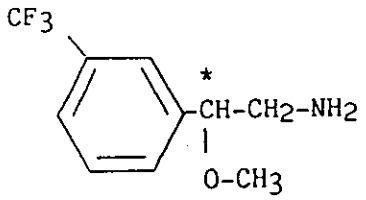
The latter is then converted into the halide III by means of a halogenated compound (such as, for example, $SOCl_2$, PCl_5 or $POCl_3$ to obtain, more precisely, a compound of formula III wherein Hal represents a chlorine atom, that is :



).

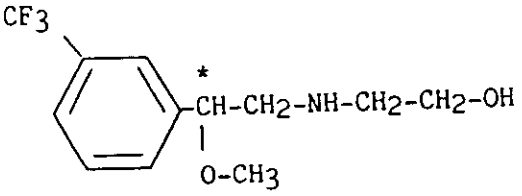
The present invention also relates to a process for the preparation of compounds of the general formula I characterised in that :

- a primary amine (optionally chiral) of formula VII :



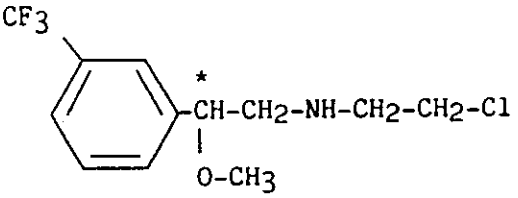
(VII)

is reacted with ethylene oxide to obtain the compound of formula VIII :



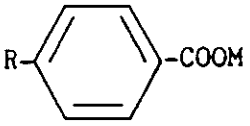
(VIII)

which is converted into the chloride of formula IX :



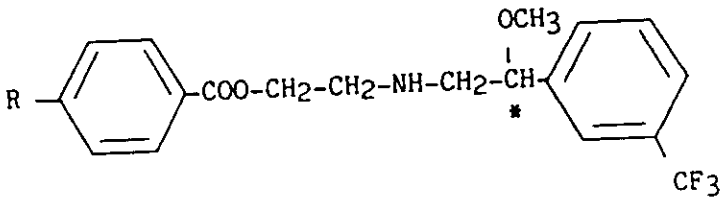
(IX)

and the latter is coupled with a salt of the general formula II' :



(II')

wherein R and M are as defined above, to yield a compound of the general formula I :



(I)

The compounds of the general formula I can be converted into addition salts with acids, which salts, as

such, form part of the present invention.

There may be mentioned as acids that can be used for the formation of those salts, for example, in the mineral series, hydrochloric, hydrobromic, nitric, sulphuric and phosphoric acid and, in the organic series, acetic, propionic, maleic, fumaric, tartaric, oxalic, benzoic, methanesulphonic and isethionic acid.

The compounds of the general formula I and their physiologically tolerable addition salts have valuable pharmacological and therapeutic properties, especially properties regulating the metabolism of glucides and lipids. Moreover, they cause a moderate reduction in arterial pressure.

More precisely, the compounds of the present invention improve the efficacy of insulin at a peripheral and/or hepatic level, resulting in an improvement in glucose tolerance and in moderate hyperglycaemia, where it exists, without the risk of hypoglycaemia, as well as a reduction in hyperinsulinaemia. Further, the compounds reverse insulin resistance induced by amylin.

They also reduce hypertriglyceridaemia and combat LDL (low density lipoprotein) oxidation, thus having an implication in the prevention of macroangiopathies.

They cause a moderate reduction in weight associated with a reduction in food intake, not associated with a serotoninergic mechanism, and as a result of the latter two properties they are differentiated from existing products in that field (benfluorex, fenfluramine).

Those properties enable them to be used therapeutically especially for the treatment of non-insulin-dependent diabetics not treated by diet, non-insulin-dependent diabetics treated with blood sugar-reducing medicaments, diabetics who are insulin-dependent or are

not treated with insulin, or non-hyperglycaemic, hypertensive or non-hypertensive, patients having hyperinsulinaemia (i.e. android obesity) and all exhibiting a resistance to insulin, whether induced or not by amylin.

The products of the invention are thus used in the treatment of diabetes, of obesity, of syndrome X (by improving the effect of insulin at the periphery and/or in the liver and by decreasing triglycerides and LDL oxidation, associated with a moderate reduction in weight), and in the treatment of hypertension in patients who are resistant to insulin or have associated or non-associated metabolic anomalies, such as, for example, hyperinsulinaemia, dyslipaemia and hyperglycaemia, whether secondary or not to the effects of amylin.

The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising as active ingredient a compound of the general formula I or a physiologically tolerable salt thereof, admixed or in association with one or more appropriate pharmaceutical excipients.

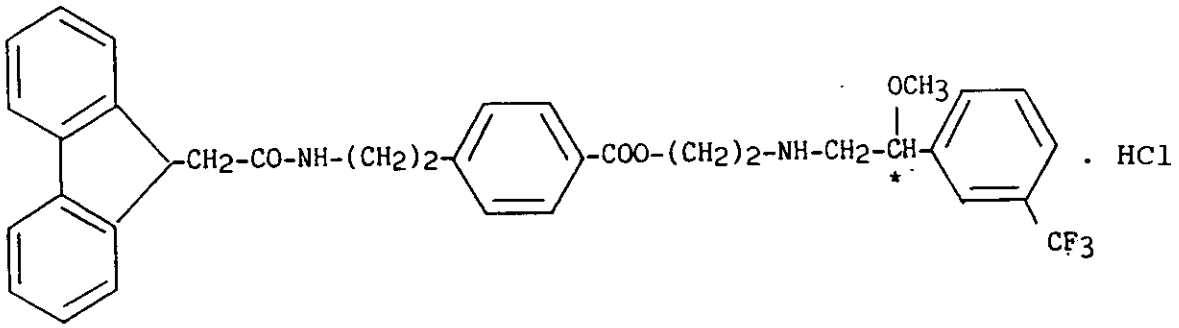
The so-obtained pharmaceutical compositions are generally in a dosage form comprising from 25 to 100 mg of active ingredient. They may be in the form of tablets, dragées, capsules, suppositories or injectable or drinkable solutions, and may be administered by the oral, rectal or parenteral route.

The dosage may vary, especially in accordance with the age and weight of the patient, the route of administration, the nature of the disorder and associated treatments, and ranges from 25 to 100 mg of active ingredient per administration from 1 to 4 times per day.

The following Examples illustrate the invention.

Example 1

Laevorotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl]benzoate hydrochloride.

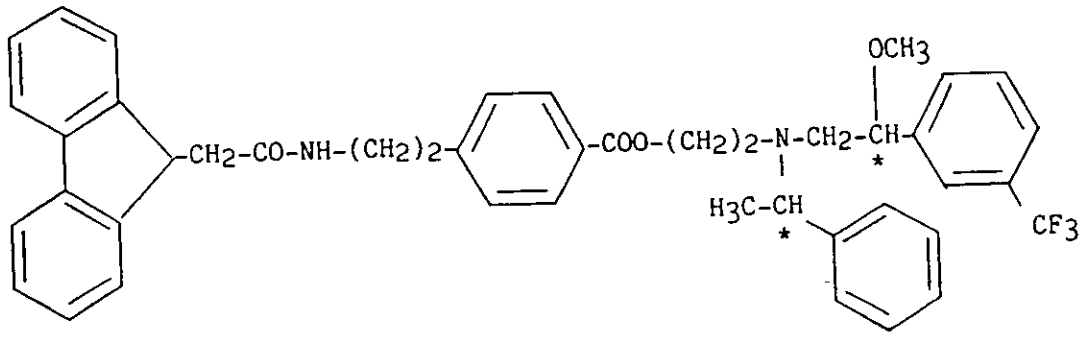


8.3 g of l-N-(ß-chloroethyl)-N-(α-phenylethyl)-N-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethyl]amine hydrochloride are stirred in 100 ml of water, 100 ml of ether and 2.5 ml of concentrated sodium hydroxide solution. The ethereal phase is collected by decanting, and dried over $MgSO_4$; the solvent is distilled off and the residue is dissolved in 50 ml of anhydrous dimethylformamide.

That solution is then poured slowly into a flask containing 7.3 g of para-[2-(fluoren-9-ylacetylamino)-ethyl]benzoic acid, 2.7 g of K_2CO_3 and 100 ml of dimethylformamide, which together have beforehand been heated to 60°C for 45 minutes.

After the addition of the chlorinated compound, the reaction mixture is heated to 90°C for 3 hours under nitrogen. The solvent is distilled off in vacuo and the residue is taken up in ether. The potassium chloride precipitate is filtered off and the ether is distilled off. The residue obtained (approximately 13 g) is filtered through 300 g of silica using a mixture of dichloromethane/ethyl acetate (95/5) as eluant.

In this manner 8 g of compound IV of formula :



are obtained. 7 g of that compound dissolved in 160 ml of anhydrous isopropanol are hydrogenated under a hydrogen pressure of approximately 90 lbs, at a temperature of 50°C, until complete absorption of the necessary amount of hydrogen.

The solution is then filtered through talc, the solvent is distilled off and the residue is filtered through 100 mg of silica using a $CH_2Cl_2/CH_3COOC_2H_5$ mixture (50/50) as eluant.

The solvent is distilled off from the fraction containing the product. The residual oil is taken up in ether and a slight excess of ethereal hydrogen chloride solution is added. The resulting precipitate is filtered and washed with ether, yielding 4.5 g of the laevo-rotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethyl-phenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetyl-amino)ethyl]benzoate hydrochloride.
Index of rotation : (c = 1 % in ethanol)

[α]589 : -29.7
[α]578 : -30.6
[α]546 : -34.7
[α]436 : -58.3
[α]365 : -90.9

The para-[2-(fluoren-9-ylacetylamino)ethyl]benzoic acid starting material was prepared in accordance with US

Patent No. 4 136 197.

The ±-N-(ß-chloroethyl)-N-(α-phenylethyl)-N-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethyl]amine hydrochloride starting material was prepared as follows :

a) 225 g of 3-trifluoromethylbromobenzene are added dropwise to a mixture of 27 g of magnesium and 500 ml of anhydrous ether to which an iodine crystal has previously been added. The reaction is effected in such a manner as to ensure a slight reflux of the ether. Once the magnesium has dissolved, 232 g of 1-methoxy-1,2-dibromoethane (prepared in accordance with the technique described in Organic Syntheses vol. IV, p 748, replacing the ethanol with methanol) are slowly added.

Refluxing is maintained for 1 hour after addition has been completed. The mixture is then cooled and subsequently hydrolysed with 250 ml of water. After decanting, the ethereal phase is washed with water and then dried.

The solvent, and then the product, are distilled off under reduced pressure. 203 g of 3-trifluoromethyl-1-(2-bromo-1-methoxyethyl)benzene are obtained (b.p./13 Pa = 68°C).

b) 202 g of that brominated compound and 173 g of (S)-α-methylbenzylamine are refluxed in 714 ml of xylene for 6 hours.

The xylene is then distilled off and the residue is taken up in ether. The α-methylbenzylammonium bromide is removed from the resulting filtrate which is then distilled to yield 144 g of product which boils at 125-128°C under 13 Pa.

94 ml of 5N ethereal hydrogen chloride are added to that compound dissolved in ether. The resulting precipitate is filtered, washed with ether and recrystallised twice from 550 ml of isopropanol each time,

yielding 80 g of pure diastereoisomer.

c) 21 g of the latter are reacted with 12 g of ethyl bromoacetate and 9.8 g of potassium carbonate in 65 ml of anhydrous ethanol. The mixture is refluxed for 8 hours, 2 ml of ethyl bromoacetate and 2.5 g of potassium carbonate are then added, and the mixture is heated again for 4 hours. The mineral compound is filtered off, the ethanol and the excess bromoacetate are distilled off and the residual oil is used as it is.

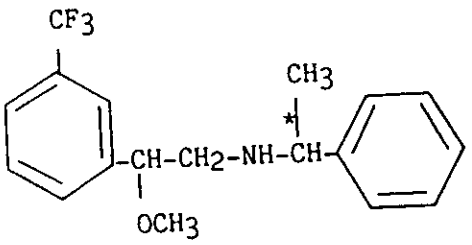
d) 27 g of the ester so obtained are reacted with 3.78 g of $LiAlH_4$ in 150 ml of anhydrous tetrahydrofuran under reflux for 5 hours.

The mixture is then hydrolysed with 3.8 ml of water, then with 3.8 ml of 4N NaOH and finally with 11.4 ml of water.

The organic phase is filtered and concentrated and used as it is.

e) 22.9 g of the alcohol so obtained are dissolved in 65 ml of chloroform. 10.5 ml of 6N ethereal hydrogen chloride are added dropwise to the solution. The solvent is evaporated off, the residue is taken up in 65 ml of chloroform and 8.2 g of thionyl chloride are added dropwise thereto.

The whole is refluxed for 5 hours and then the solvent is distilled off. The residue is taken up in 150 ml of ethyl acetate and dissolved with the application of heat. The solution is allowed to cool until a slight precipitate is formed corresponding to :



. HCl

which is removed accordingly.

The solvent is then distilled off from the remaining solution and the residual product (which is the l-N-(ß-chloroethyl)-N-(α-phenylethyl)-N-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethyl]amine hydrochloride) is used as it is.

Examples 2 to 7

The following compounds were prepared by proceeding as described in Example 1 :

2. Dextrorotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl]benzoate hydrochloride, index of rotation (c = 1 % in ethanol) :

[α]589 : +30.0
[α]578 : +31.3
[α]546 : +35.8
[α]436 : +61.4
[α]365 : +95.0

3. dl-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl]-benzoate hydrochloride.

4. Laevorotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(benzhydrylacetylamino)ethyl]benzoate hydrochloride.
Index of rotation (c = 1 % in ethanol at 21°C).

[α]589 : -32.3
[α]578 : -33.5
[α]546 : -38.1
[α]436 : -64.5

[α]365 : -100.7.

5. dl-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride, m.p. (Kofler) : 122-123°C.

6. Laevorotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.
Index of rotation (c = 1 % in ethanol at 23°C).

[α]589 : -52.9
[α]578 : -55.1
[α]546 : -62.7
[α]436 : -106.6
[α]365 : -167.3.

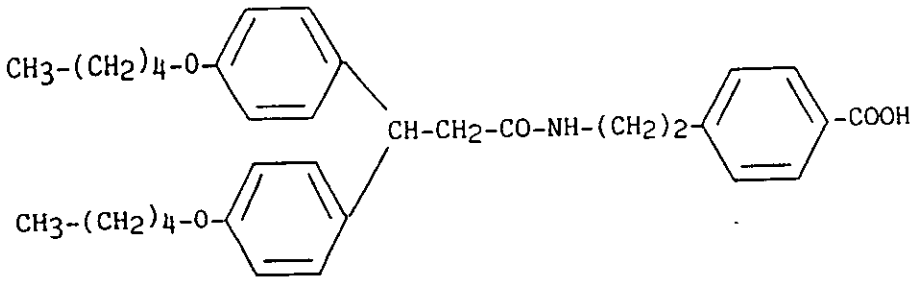
7. Dextrorotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.
Index of rotation (c = 1 % in ethanol at 23°C).

[α]589 : +51.5
[α]578 : +53.9
[α]546 : +61.1
[α]436 : +103.6
[α]365 : +152.2.

Examples 8 and 9

The new starting materials of the general formula IIa were prepared in accordance with the method illustrated in the following Examples :

8. Para-{2-[N-(bis-4,4'-n-pentyloxybenzhydrylacetyl)-amino]ethyl}benzoic acid



a) Para-n-pentyloxybromobenzene : 276 g of anhydrous potassium carbonate are added to 173 g of p-bromophenol dissolved in 1800 ml of methanol. After stirring, the reaction mixture is treated with 164 ml of n-bromopentane and maintained at reflux for 4 hours with stirring.

After cooling, 3 litres of water are added and the methanol is removed under water-jet vacuum.

After extraction with 2 litres of ether and then twice with 1 litre of ether each time, the organic solutions are combined and washed 3 times with 1 litre of water each time. After drying over anhydrous $MgSO_4$, the solution is evaporated off <u>in vacuo</u> and the residue is distilled.

222.8 g of para-n-pentyloxybromobenzene ($b.p._{/13\ Pa}$ = 87-91°C) are obtained. Yield : 91.6 %.

b) Para-n-pentyloxybenzaldehyde : by operating as above starting with 33 g of para-hydroxybenzaldehyde, 74.5 g of potassium carbonate and 45 g of n-bromopentane, 21 g of para-n-pentyloxybenzaldehyde ($b.p._{/1.3\ Pa}$ = 112-114°C) were isolated. Yield : 37 %.

c) Ethyl n-pentyloxybenzylidenemalonate : 32.6 g of dimethylamine hydrochloride and 1.7 g of

potassium fluoride are added to 38.5 g of para-n-pentyloxybenzaldehyde and 31 ml of ethyl malonate dissolved in 400 ml of anhydrous dimethylformamide. The reaction mixture is heated with stirring for 18 hours. After cooling, the solvent is evaporated off in vacuo (13×10^2 to 20×10^2 Pa). The residue is taken up twice in 250 ml of methylene chloride each time. The organic layer is washed with 200 ml of a normal hydrochloric acid solution and then twice with 200 ml of water each time.

After drying over anhydrous magnesium sulphate, the solvent is evaporated off under water-jet vacuum. Distillation of the residue yields 49.8 g of ethyl para-n-pentyloxybenzylidenemalonate (b.p./$_{13\ Pa}$ = 170-175°C). Yield : 74.5 %.

d) Ethyl α-ethoxycarbonyl-ß,ß-[bis(para-n-pentyloxyphenyl)]propanoate :

To a solution of para-n-pentyloxyphenylmagnesium bromide prepared from 5.8 g of para-n-pentyloxybromobenzene and 0.64 g of magnesium turnings in 30 ml of tetrahydrofuran (THF) (poured in over a period of 1 hour under reflux, then maintained at reflux for a further 1 hour) there are added, over a period of 30 minutes, 8 g of ethyl para-n-pentyloxybenzylidenemalonate dissolved in 25 ml of THF. After refluxing for 2 hours 30 minutes with stirring, 25 ml of a normal HCl solution are poured in. The reaction mixture is extracted three times with 50 ml of water each time and then dried over $MgSO_4$. After evaporation the residue is purified by chromatography. 8.7 g of the desired product are obtained.

e) ß,ß-[Bis(para-n-pentyloxyphenyl)]propionic acid :

8.5 g of the product obtained in d) dissolved in 22.5 ml of ethanol are added to a solution of 6.2 g of potassium hydroxide in 100 ml of water. The solution

obtained is maintained at reflux for 1 hour 30 minutes. After removal of the solvent under water-jet vacuum, the residue is taken up in 200 ml of water and then acidified with 11 ml of a 37 % concentrated HCl solution. The oil formed is extracted 3 times with 100 ml of ether each time. After washing twice in 50 ml of water each time, the ether is dried over magnesium sulphate and then evaporated off in vacuo. 5.6 g of product, m.p. : 134-136°C, are obtained, yield : 75 %.

The residue is heated for 15 minutes at 180-190°C. After washing with petroleum ether, 3.3 g of ß,ß-[bis-(para-n-pentyloxyphenyl)]propionic acid are obtained, m.p. : 72°C, yield : 67 %.

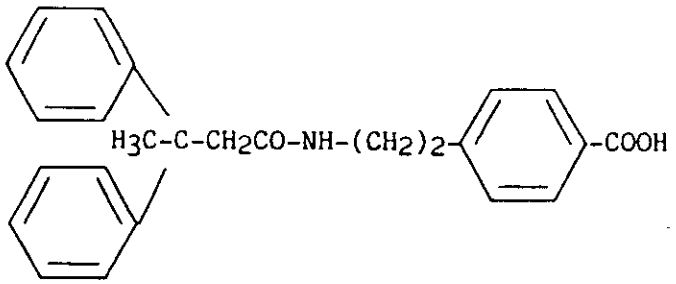
f) Ethyl para-{2-[N-(bis-4,4'-n-pentyloxybenzhydryl-acetyl)amino]ethyl}benzoate :

1.07 ml of triethylamine in 10 ml of THF are added to 3.06 g of the acid prepared in e) dissolved in 30 ml of THF. After stirring for 1 hour, the solution obtained is added to 0.76 ml of ethyl chloroformate in 30 ml of THF cooled to 0°C. 1.56 g of ethyl para-[ß-(amino)ethyl]-benzoate dissolved in 10 ml of THF are then poured in over a period of 15 minutes. The temperature rises to 10°C. After stirring for 45 minutes at room temperature and 12 hours under reflux, the precipitate is suction-filtered off and the filtrate is evaporated to dryness in vacuo. Chromatography yields 3.06 g of the desired benzoate.

g) Para-{2-[N-(bis-4,4'-n-pentyloxybenzhydryl-acetyl)amino]ethyl}benzoic acid :

3 g of the ester obtained in f), 15 ml of ethanol and 5.7 ml of normal sodium hydroxide solution maintained at reflux for 2 hours result in the corresponding benzoic acid.

9. Para-{2-[N-(3-methyl-3,3-diphenylpropionyl)amino]-ethyl}benzoic acid :



a) Ethyl (α-methylbenzylidene)-cyanoacetate :

60 g of acetophenone, 56.6 g of ethyl cyanoacetate, 7.7 g of ammonium acetate, 24 g of acetic acid and 100 ml of benzene are refluxed with stirring and the water formed during the course of the reaction is removed as the reaction proceeds using a Dean Stark apparatus.

After 13 hours 40 minutes of heating, 100 ml of ether are added and the reaction mixture is washed 3 times with 100 ml of water each time. The organic layer is dried over magnesium sulphate and concentrated under water-jet vacuum and the residue is distilled, yielding 58.4 g of ethyl (α-methylbenzylidene)-cyanoacetate (b.p./$_{13\ Pa}$ = 125-128°C).

b) α-Ethoxycarbonyl-β,β-diphenylbutyronitrile :

41 g of bromobenzene dissolved in 100 ml of anhydrous ether are added over a period of 1 hour 20 minutes, with stirring, to 6.3 g of magnesium turnings and 240 ml of anhydrous ether. The mixture is refluxed for 2 hours and then, over a period of 30 minutes, 51 g of ethyl (α-methylbenzylidene)-cyanoacetate in 150 ml of ether are added. After having been heated for 5 hours, the reaction mixture is hydrolysed with 150 ml of 2N HCl. The organic layer is decanted off. The aqueous layer is extracted twice with 100 ml of ether each time. The ethereal phases are combined, washed with 100 ml of

water, dried over $MgSO_4$ and, after filtration, concentrated under water-jet vacuum.

Distillation of the residue yields 30.7 g of the desired product (b.p./$_{13\ Pa}$ = 150-155°C), yield : 46 %.

c) α-Carboxy-ß,ß-diphenylbutyronitrile :

15 g of α-ethoxycarbonyl-ß,ß-diphenylbutyronitrile, 65 ml of ethanol, 18.4 g of potassium hydroxide pellets and 30 ml of water are stirred at room temperature for 4 hours. After concentration in vacuo, the residue is taken up in 150 ml of water. After extracting 3 times with 50 ml of ether each time, the aqueous layer is acidified with 22 ml of concentrated HCl and extracted 3 times with 100 ml of ether each time. The organic layers are combined, dried over $MgSO_4$ and evaporated. 14 g of the desired product are obtained.

d) ß,ß-Diphenylbutyronitrile :

14 g of α-carboxy-ß,ß-diphenylbutyronitrile and 85 ml of triethylene glycol are heated at 80°C for 30 minutes and then, after cooling, diluted with 300 ml of water. After extracting 3 times with 150 ml of ether each time, drying the organic layer and concentrating in vacuo and purifying by chromatography, 7.3 g of ß,ß-diphenylbutyronitrile are obtained. Yield : 64 %.

e) ß,ß-Diphenylbutyric acid :

7.2 g of the product obtained in d), 9.6 ml of concentrated sulphuric acid, 12 ml of water and 12 ml of acetic acid are maintained at reflux for 22 hours. After cooling and treating with 90 ml of water, the precipitate formed is suction-filtered off and washed with water. After drying and recrystallisation from 20 ml of cyclohexane, 6.5 g of the desired acid are obtained, m.p. : 100°C, yield : 77 %.

f) ß,ß-Diphenylbutyryl chloride :

6.5 g of the acid above are added over a period of 15 minutes to 10 ml of thionyl chloride. After heating for 2 hours at reflux, the solution obtained is concentrated in vacuo and the residue is taken up twice in 50 ml of benzene with evaporation each time. 6.6 g of ß,ß-diphenylbutyryl chloride are obtained.

g) Para-{2-[N-(3-methyl-3,3-diphenylpropionyl)-amino]ethyl}benzoic acid :

31.5 g of triethylamine are added, with stirring, to a suspension of 5.2 g of para-[ß-(amino)ethyl]benzoic acid hydrochloride in 200 ml of anhydrous dimethylformamide, then 6.5 g of the chloride obtained in f) dissolved in 75 ml of anhydrous THF are poured in over a period of 15 minutes. The temperature rises from 26 to 34°C. After stirring for 4 hours at room temperature, then for 5 hours at 40°C, the triethylamine hydrochloride formed is suction-filtered off and the filtrate is concentrated in vacuo. The residue is taken up in 60 ml of water. The precipitate formed is suction-filtered off, dried in air and then recrystallised from 50 ml of anhydrous isopropanol. 5 g of para-{2-[N-(3-methyl-3,3-diphenylpropionyl)amino]ethyl}benzoic acid are obtained, m.p. : 211°C.

Example 10 :

PHARMACOLOGICAL STUDY

A. STUDY OF THE EFFECT OF AN ACUTE TREATMENT ADMINISTERED BY PORTAL PERFUSION TO CONSCIOUS RATS

1. Aim of the experiment

The technique of portal perfusion in conscious rats makes it possible to study the effect of pharmacological substances on modifications of the tolerance to glucose

administered by the intravenous route.

The injection of agents directly into the portal circulation makes it possible to avoid the effects of gastric transit, absorption and release of hormone through the intestinal wall and thus to explore :
- both the direct effect on the hepatic tissue,
- and the existance of a liver-central nervous system-peripheral tissue relay (liver, muscle or endocrinal target).

2. Protocol

2.1 Animals used

In this experiment, adult male SPRAGUE DAWLEY rats were used in groups of from 5 to 12 rats.

The rats used, aged 52 weeks, exhibit
- a reduction in glucose tolerance,
- an increase in basal insulinaemia, and
- an increase in plasma lipids.

The housing (from 9 to 52 weeks) of those rats was effected in a chamber at a regulated temperature of from 21 to 22°C subjected to a fixed cycle of light (from 07.30 to 19.30 hours) and darkness (from 19.30 to 07.30 hours). Their food consisted of a maintenance diet (UAR A 03); water and food were supplied "ad libitum", with the exception of the night-fasting preceding the tests, when the food was removed.

2.2 Methods

Surgical preparation :

On d_7 before the beginning of the experiment, the rats are anaesthetized with ketamine (IMALGENE 1000 - Rhone MERIEUX), and a Silastic catheter (602-135, medical grade, DOW CORNING MIDLAND) is implanted in the hepatic portal vein [cf. Strubbe J.H., Wolsink J.G., Schutte A.M., Balkan B. and Prins A.J.A. : Hepatic-portal and

cardiac infusion of CKK-8 and glucagon induce different effects on feeding. Physiology and Behavior 46,643-646 (1989)] for the perfusion of the physiological solution (control day) and then of the product to be tested. They are then placed individually in plexiglass cages.

- After recovery, that is to say approximately 10 days later, a second Silastic catheter (602-155, medical grade, DOW CORNING MIDLAND) is introduced up into the right auricle through the right jugular vein [cf. Steffens A.B. : Method for frequent sampling of blood and continuous infusion of fluids in the rat without disturbing the animal. Physiology and Behavior 4, 833-836 (1969)]. During the experiments, the various blood samples will be taken and the intra-cardiac injection of a glucose bolus will be carried out using that catheter. During the two surgical procedures, the catheters are slid under the skin and exited at the top of the head by means of a polished needle bent back and plugged by a polyethylene (PE) cap closed with a bougie.
- 0.4 ml of a 500 U/ml heparin solution (ROUSSEL UCLAF) followed by 0.1 ml of PVP (30 % polyvinylpyrrolidone solution - MW 25000 - MERCK) are introduced into the catheters before closure with the polyethylene cap. The viscosity of the PVP makes it possible to avoid a reflux of blood into the catheter.
- The day before each experiment, the rats are subject to 18 hours of night fasting. On the day of the experiment, these rats are weighed and the catheters are checked to ensure they are working properly.
- In order to overcome the stress of connecting the catheters to the externalised needles on the top of the head, 20 minutes' rest are required before the experiment is started.
- The intraportal perfusions, carried out using a No.3 polyethylene catheter, take 60 minutes; they have a

constant flow of 2 ml/hour, that is to say approximately 0.033 ml/minute, ensured by a BRAUN perfuser. An IVGTT test (intravenous administration glucose tolerance test) is carried out 30 minutes after starting the portal perfusion.

- The control experiment (reference test) consists in the perfusion of a saline solution (0.9 % isotonic sodium chloride BIOSEDRA), which permits the basal value of tolerance (K) towards a dose of glucose to be determined for each rat.
- Resistance to insulin is induced in normal rats by means of an intraportal perfusion of amylin (IAPP, insulinoma associated pancreatic polypeptide) at 26 nmol/kg/h over a period of 90 minutes.
- 0.40 ml blood samples are taken (No.6 polyethylene catheter) immediately before the perfusion and 30 minutes after starting the perfusion. Those samples are used to determine the basal glycaemia and basal insulinaemia. Immediately after collecting basal no.2, that is to say 30 minutes after starting the perfusion, a glucose bolus is administered (1 ml/kg of a 50 % glucose solution) into the jugular vein. A series of samples is then taken every 3 minutes from t+30 to t+60 minutes after administration of the bolus. A volume of 0.40 ml is taken each time and is replaced by 0.40 ml of physiological heparinated serum.

Satisfactory functioning of the catheters is ensured by injecting PVP between each experiment.

Collection of the samples :

- To determine glycaemia, the blood is collected in URAC (deproteinating solution) using 20 μl of blood per 200 μl of URAC (1/10 solution).

- The samples to be used for determining insulinaemia

are collected over heparin (20 µl of physiological heparinated serum at 500 IU/ml, that is to say 7.5 IU of heparin per tube to be centrifuged).

- All the tubes are placed in ice as soon as the samples are collected. The samples are then centrifuged for 10 minutes at 3000 revs/min (refrigerated centrifuge) to separate the substances present as quickly as possible.

- The sera (in URAC for glycaemia) and the plasma (insulinaemia) are then distributed into Eppendorf tubes which are placed in a freezer (-20°C) until the day of the determination.

Analytical procedures :

Determination of glycaemia :

The blood glucose is measured by the glucose oxidase method using a Boehringer kit.

- A quality control is effected by determining the standard values and control values.

Measurement of glucide assimilation :

(cf. Conard v. : Mesure de l'assimilation du glucose, bases théoriques et applications cliniques [Measurement of the assimilation of glucose, theoretical bases and clinical applications], "acta medica belgica" editions (1959)).

The rate of glycaemia disappearance following glucose loading is expressed by the angular coefficient K of the straight line log c = log A - Kt obtained on semi-logarithmic paper entering the time (min) on the abscissa and the ln (glucose) on the ordinate. That coefficient is calculated for the glycaemia values corresponding to the

times between the 6th and the 30th minute after administration of the bolus. That calculation is carried out by a computer, using a linear regression program, after verification by graphical representation.
That coefficient of glucide assimilation is considered as a constant, characteristic of a given subject.

Determination of insulinaemia :
- Immunoreactive plasma insulin (IRI) is determined by a PHARMACIA Phadeseph kit radio-immunological method, a solid-phase double antibody technique.

- The determination of the standards and of the samples is carried out in duplicate.

Preparation of the solutions :
- For the control experiment (reference test) :
Intraportal perfusion of 0.9 % isotonic sodium chloride (BIOSEDRA)
- For the intraportal perfusion of the pharmacological reactant :
A stock solution having 1 mg of base product per ml of distilled water is produced and is used to prepare the final solution (in 0.9 % NaCl).

Results
The results are given in the following Tables Ia and Ib.

Table I A

SDCD male rats 52 weeks	Basal insulinaemia µU/ml % change	Peak insulinaemia µU/ml % change	Insulinaemia 30 min after glucose µU/ml % change	Glucose tolerance $Kx10^{-2}$ %
Control	24.06 ± 3.03	57.4 ± 13.7	29.0 ± 3.7	2.72 ± 0.23
Benfluorex 7.5 µg/kg/minx60 min	- 42% p<0.05	- 5% NS	- 36% NS	+ 50% p=0.025
Dimethyl biguanide 15 µg/kg/minx60 min	inactive			
Product of Example 1				
0.25 µg/kg/minx60 min	- 42% p<0.05	0	- 21% NS	+ 3% NS
0.50 µg/kg/minx60 min	- 6% p<0.001	- 21% NS	- 69% p<0.001	+ 40% p=0.025
0.75 µg/kg/minx60 min	- 25% p=0.05	+ 10% NS	- 36% NS	+ 60% p=0.005

An intraportal catheter and an intracardiac catheter (right auricle) are implanted in 52-week-old SDCD rats. After post-surgical recovery, the various groups of rats are subjected to an 18-hour fast. The rats are conscious during the experiment. The products are administered by intraportal perfusion for a period of 1 hour. An induced hyperglycaemia test is effected 30 minutes after starting the perfusion which is continued during the IVGTT.

TABLE IB

Insulin resistance induced by an intraportal perfusion of amylin

(In 12-week old rats)

	Basal Insulinaemia (μU/ml)	Peak Insulinaemia (μU/ml)	Insulinaemia 24 min after adminstration of glucuse (μU/ml)	Glucose tolerance $Kx10^{-2}$
Control	5.93±0.48	24.80±1.86	8.86±0.77	3.54±0.24
Amylin perfusion	6.87±0.77	23.54±1.7	15.28±1.90	1.71±0.27
Perfusion of amylin + product of Example 1 (0.75 μg/kg/min over a 60 min period)	8.26±1.15	23.60±2.17	15±1.86	3.79±0.38

B. STUDY OF THE EFFECT OF A CHRONIC TREATMENT ADMINISTERED PER OS TO 52-WEEK-OLD MALE SDCD RATS :

1. Aim of the experiment

The tests are carried out on rats that have weight anomalies associated with hyperinsulism and hyperglyceridaemia.

The following are investigated :
- on the one hand the effect on those anomalies of a prolonged treatment with the product of Example 1 and with the reference substances, and
- on the other hand, the consumption of glucose by the adipose tissue is measured in the basal state and in the presence of insulin (10^{-9} M).

2. Protocol

2.1 Animals used

Rats identical to those in the acute treatment study are used (cf. paragraph A- 2.1 hereinabove), that is to say, male SDCD rats aged 52 weeks.

2.2 Methods

9 days before the beginning of the experiment (d_{-9}), the rats are divided into groups by stratified randomisation based on weight.

5 days before the beginning of the experiment (d_{-5}), the rats are conditioned by administering a gum solution.

On the first day of the experiment (d_1), the products to be tested are administered to the rats at different doses twice per day. More precisely, the products are administered suspended in gum between 09.00 and 10.00 hours and 16.00 and 17.00 hours for 14 days. The treated animals are weighed daily.

On day 15 the rats (fasted for 18 hours) are sacrificed by decapitation. The blood is collected

directly into a small cup. An aliquot (50μl) is transferred into 500 μl of uranyl acetate for determining the glycaemia. An aliquot of 3 ml is transferred into a tube containing a solution of heparin (30 μl per 1 ml of whole blood) and centrifuged to separate the plasma. Another aliquot of 300 μl is transferred into a tube containing 15 μl of a solution of EDTA/NaF for determining the lactates.

Epididymal adipose tissue is taken for metabolic study immediately after sacrifice.

For each animal, two fragments of right and left epididymal tissue are minced with scissors and distributed in 6 incubation flasks. Three of those flasks contain 500 μl of medium and the others contain 500 μl of medium to which porcine insulin (10^{-9}M) has been added; the production of CO_2 is thus measured in triplicate for each of the rats from each group.

2.3 Results

The results are given in the following Table II.

Table II

Treatment of 52-week-old male SDCD rats	% weight change	Basal insulinaemia µU/ml % change	Glycaemia g/l % change	Glucose tolerance K 10^{-2} % change	Triglyceride g/l % change	Cholesterol g/l % change	Cerebral serotonin
Control	+ 0.4 %	32 ± 2.4	1.06 ± 0.05	3.01 ± 0.24	3.64 ± 0.57	1.1 ± 0.14	
Benfluorex							
1 mg/kgx2	- 2% (NS)	- 10% NS	- 10% NS	+ 30% p<0.05	- 43% p=0.025	- 20% NS	Reduced
2.5 mg/kgx2	- 6% p=0.85	- 16% NS	- 12% NS	+ 25% p=0.05	- 44% p=0.05	- 30% NS	Reduced
Product of Example 1							
0.5 mg/kgx2	- 1.4% p=0.005	- 12% p=0.5	- 5% NS	+ 26% (NS) p=0.088	- 18 % (NS)	0	unchanged
1.0 mg/kgx2	- 1.9% p=0.005	- 20% p=0.2	+ 10% NS	+ 41% p=0.064	- 38%	- 8% (NS)	unchanged
2.5 mg/kgx2	- 3.6% p=0.005	- 41% p=0.005	- 10% NS	+ 59% p=0.025	- 50% p=0.01	- 34% p=0.025	unchanged

C- IN VITRO STUDY OF LDL OXIDATION

A comparative study between the product of Example 1 and the reference substances (benfluorex, dimethyl biguanide) with respect to in vitro LDL oxidation was carried out.

The results are given in the following Table III.

Table III

	In vitro LDL oxidation		Incorporation of oleate in the esters of cholesterol
	by copper	by monocytes	
Benfluorex	inactive at 10^{-4} M	inactive at 10^{-4}M	- 30% at 10^{-5}M
Dimethyl biguanide 10^{-4} M	inactive at 10^{-4} M	inactive at 10^{-4} M	inactive at 10^{-5} M
Product of Example 1	$IC_{50}=10^{-5}$ M	$IC_{50}=10^{-}$ M	- 70% at 10^{-5}M

D- EXAMINATION INTO A HYPOTENSIVE EFFECT IN CONSCIOUS DOGS

The arterial pressure was measured by an external pressure band (sphygmomanometer) on the tail of a dog, before and after treatment with the product of Example 1 at a dose of 5 mg/kg p.o.

The results are given in the following Table IV.

Table IV

Product tested	Animal treated (number:n)	Decrease in arterial pressure (AP)	
		systolic AP	diastolic AP
Product of Example 1 (5 mg/kg p.o.)	dog (n=4)	-2.4×10^3 Pa to -3.6×10^3 Pa	-3×10^3 Pa to -5×10^3 Pa

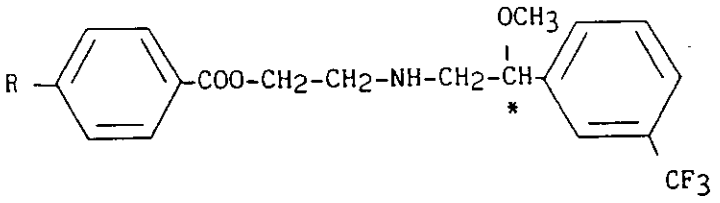
E. CONCLUSION

The results of the studies described above show the pharmacological and therapeutic value of the laevo-rotatory isomer of 2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoro-methylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl]benzoate hydrochloride (a particularly representative example of the compounds of the present invention) and the novelty and superiority thereof compared with reference substances known as being specifically adapted to the treatments in question.

CLAIMS

for the Contracting States : AT BE CH DE DK FR GB IT LI LU NL PT SE

1. Ethanolamine benzoate compounds of the general formula I :

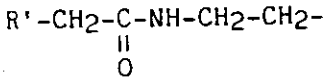


(I)

wherein:

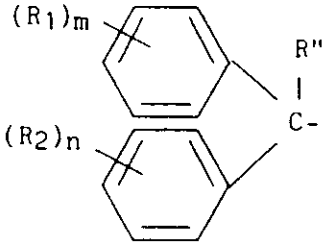
R represents :

- a hydrogen atom or
- a group of the formula:



wherein R' represents:

a) either a radical of the formula:



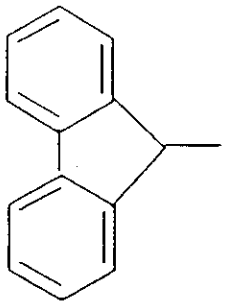
wherein:

R" represents a hydrogen atom or an alkyl radical containing from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain,

each of R_1 and R_2, which may be identical or different, represents a hydrogen atom or an alkyl or

alkoxy radical each having from 1 to 5 carbon atoms in a straight or branched chain, and each of m and n, which may be identical or different, represents 1, 2 or 3;

b) or a fluorenyl radical of the formula:



in the form of racemic compounds or enantiomers.

2. The physiologically tolerable salts of the compounds of claim 1 with appropriate acids.

3. l-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)-ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)-ethyl] benzoate hydrochloride.

4. d-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl] benzoate hydrochloride.

5. dl-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(α-fluoren-9-ylacetylamino)ethyl] benzoate hydrochloride.

6. l-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl para-[2-(benzhydrylacetylamino)ethyl] benzoate hydrochloride.

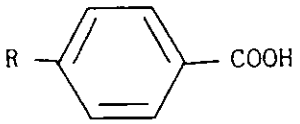
7. dl-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethylamino]ethyl benzoate hydrochloride.

8. l-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethyl-amino]ethyl benzoate hydrochloride.

9. d-2-[(ß-methoxy-ß-meta-trifluoromethylphenyl)ethyl-amino]ethyl benzoate hydrochloride.

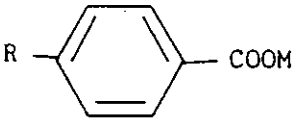
10. Process for the preparation of the compounds of claim 1, characterised in that:

- the acid of the general formula II:



(II)

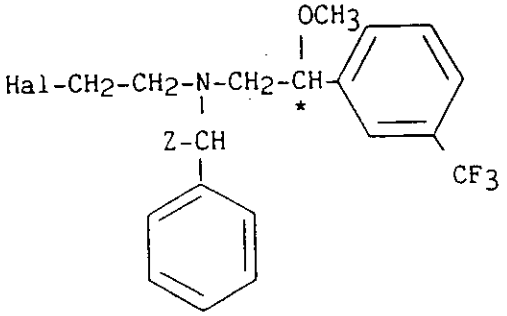
wherein R is as defined in claim 1, is converted into a salt of the general formula II':



(II')

wherein R is as defined above and M is an alkali metal or an alkaline earth metal;

- the latter is reacted with a halogenated compound of the general formula III:

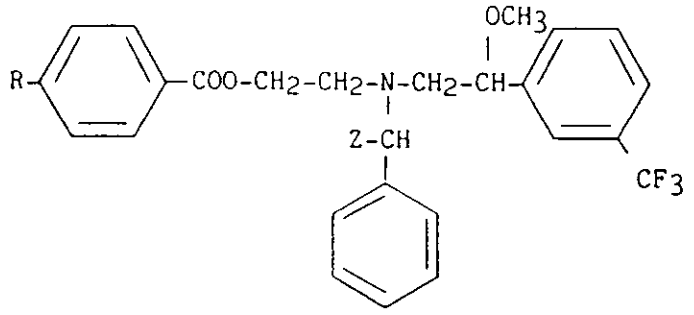


(III)

wherein

- Z represents a hydrogen atom or a methyl radical, and
- Hal represents a halogen atom;

- and the compound so obtained of the general formula IV:



(IV)

wherein R and Z are as defined above, is debenzylated catalytically.

11. Pharmaceutical compositions comprising as active ingredient a compound according to claims 1 to 9 with one or more appropriate pharmaceutical excipients.

12. Pharmaceutical compositions according to claim 11 presented in a form suitable especially for the treatment of diabetes, obesity, insulin resistance syndrome, "Syndrome X", secondary or otherwise to hyperamylinaemia involving a reduction in glucose tolerance, hyperinsulinaemia, dyslipaemia and hypertension, and for the treatment of hypertension in insulin-resistant subjects or subjects having one or more metabolic anomalies.

REGISTER ENTRY FOR EP0518769

European Application No EP92401620.7 filing date 12.06.1992

Application in French

Priority claimed:
14.06.1991 in France - doc: 9107289

Designated States BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL PT SE AT

Title ETHANOLAMINEBENZOATE DERIVATIVE, PROCESS FOR THEIR PREPARATION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THEM.

Applicant/Proprietor
ADIR ET COMPAGNIE, 1 rue Carle Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex, France
[ADP No. 50182500002]

Inventors
MICHEL WIERZBICKI, 8 Résidence du Chemin Pavé, F-78620 L'Etang la Ville, France [ADP No. 60402542001]

PIERRE HUGON, 13 rue Eugène Sue, F-92500 Rueil Malmaison, France
[ADP No. 57203606001]

JACQUES DUHAULT, 14bis rue Paul Demange, F-78290 Croissy Sur Seine, France
[ADP No. 59414532001]

FRANÇOISE LACOUR, 44 avenue du Chateau, F-94300 Vincennes, France
[ADP No. 57203622001]

MICHELLE BOULANGER, "Le val Cort" 71, avenue Auguste Renoir, F-78160 Marly le Roi, France [ADP No. 60402559001]

Classified to
C07C A61K

Address for Service
ABEL & IMRAY, Northumberland House, 303-306 High Holborn, LONDON, WC1V 7LH, United Kingdom [ADP No. 00000174001]

EPO Representative
MARCELLE REVERBORI, Adir et Compagnie, 1, rue Carle Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex, France [ADP No. 50788975001]

Publication No EP0518769 dated 16.12.1992 and granted by EPO 07.12.1994.
Publication in French

Examination requested 17.06.1992

Patent Granted with effect from 07.12.1994 (Section 25(1)) with title ETHANOLAMINEBENZOATE DERIVATIVE, PROCESS FOR THEIR PREPARATION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THEM. Translation filed 07.03.1995

04.11.1994 Notification from EPO of change of EPO Representative details from
MARCELLE REVERBORI, Adir et Compagnie, 1, rue Carle Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex, France [ADP No. 50788975001]
to
MARCELLE REVERBORI, ADIR 1, rue Carle Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex, France [ADP No. 50788975001]
Entry Type 25.14 Staff ID. RD06 Auth ID. EPT

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

RENEWAL DETAILS

PUBLICATION NUMBER EP0518769

PROPRIETOR(S)

ADIR ET COMPAGNIE, 1 rue Carle Hébert, 92415 Courbevoie Cédex, France

DATE FILED 12.06.1992

DATE GRANTED 07.12.1994

DATE NEXT RENEWAL DUE 12.06.1997

DATE NOT IN FORCE

DATE OF LAST RENEWAL 03.06.1996

YEAR OF LAST RENEWAL 05

STATUS PATENT IN FORCE

**** END OF REPORT ****