

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 587 699

②① N° d'enregistrement national :

86 13427

⑤① Int Cl⁴ : C 07 C 149/28; A 61 K 31/38.

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 26 septembre 1986.

③① Priorité : GB, 26 septembre 1985, n° 85.23776.

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 13 du 27 mars 1987.

⑥① Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦① Demandeur(s) : SOCIÉTÉ DE CONSEILS, DE RECHER-
CHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.),
Société anonyme. — FR.

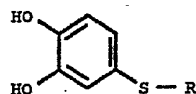
⑦② Inventeur(s) : Michel Follet et Marc Bonato.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Jacques Lachassagne.

⑤④ Médicaments à base de nouveaux dérivés du catéchol.

⑤⑦ L'invention concerne des médicaments à base de nou-
veaux dérivés du catéchol répondant à la formule générale



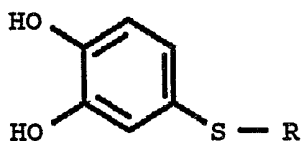
dans laquelle R représente différents substituants.

FR 2 587 699 - A1

- 1 -

La présente invention concerne des médicaments à base de nouveaux dérivés du catéchol.

L'invention concerne, plus particulièrement, des médicaments dans lesquels l'un des principes actif est un dérivés du catéchol répondant à la formule générale I



I

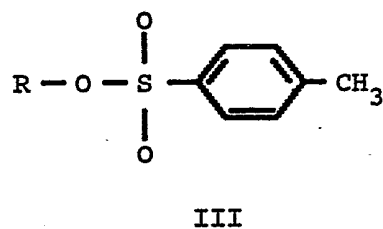
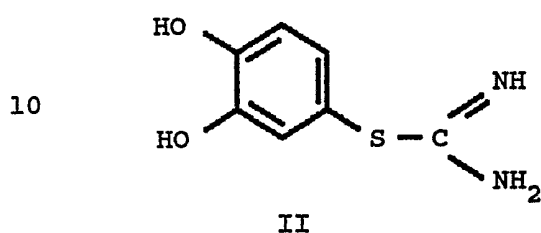
dans laquelle R représente un radical hydrocarboné acyclique en chaîne droite ou ramifiée contenant de 1 à 8 atomes de carbone, l'un de ces atomes de carbone étant éventuellement asymétrique, un radical mono- ou bicycloalcoyl éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyle comprenant de 1 à 7 atomes de carbone, l'un des atomes de carbone du radical mono- ou bicycloalcoyl étant éventuellement asymétrique, un radical phényle, un radical halophényle, un radical nitrophényle ou un radical phényle substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyle ayant de 1 à 7 atomes de carbone, ou par des radicaux trifluorométhyle ou par des radicaux COOY dans lesquels Y est un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone.

Les principes actifs des médicaments selon l'invention sont des inhibiteurs de la lipoxgénase et de la cyclogénase. Ils peuvent être utilisés en thérapeutique humaine pour leurs

- 2 -

propriétés antiinflammatoire non stéroïdique, anti-thrombotique, antiallergique, antiischémique et anti-anaphylactique.

Les principes actifs de ces médicaments peuvent être
 5 obtenus par le procédé consistant à faire réagir, au reflux, dans un alcanol anhydre, la S-(dihydroxy-3,4 phényle) isothiourée de formule II, ci-dessous, sur un tosylate de formule III, ci-dessous, dans laquelle R est défini comme précédemment.



La réaction est, de préférence, effectuée en portant au reflux les produits de départ dans le méthanol anhydre pendant 48 à 72 heures, sous atmosphère inerte. La S-(dihydroxy-3,4 phényle) isothiourée II est, de préférence, utilisée sous la
 15 forme de son chlorhydrate. Le groupement représenté par R dans la formule du tosylate III peut être racémique ou optiquement actif.

La S-(dihydroxy-3,4 phényle) isothiourée II peut être préparée par une méthode dérivée de celle décrite par J.
 20 DANEKE, U. JAENKE, B. PANKOW et H.W. WANZLICK, Tetrahedron Letters 1970, 15, 1271. Le tosylate III peut être préparé par une méthode dérivée de celle décrite par A. STRITWIESER Jr et A.C. WAIS Jr, J. Org. Chem., 1962, 27, 290.

- 3 -

L'invention sera, d'ailleurs, mieux comprise grâce à la description des exemples qui suivent.

Exemple 1

(méthyle-2 butyle thio)-4 catechol (R = $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)

5 Dans un réacteur d'un litre équipé d'un agitateur magnétique et placé sous circulation d'azote, on dissout 22 g (0,1 mole) de S-(dihydroxy-3,4 phényle) isothiourée dans 50 ml de méthanol anhydre. La solution est chauffée et on lui ajoute une solution de méthanolate de sodium contenant 9,2 g de sodium (4 équivalents) pour 150 ml de méthanol anhydre. On
10 verse 24,2 g (0,1 mole) de tosylate de méthyle-2 butyle en solution dans 50 ml de méthanol, la température étant portée au voisinage du point d'ébullition du méthanol.

Le mélange réactionnel est maintenu au reflux pendant
15 48 heures puis le solvant est évaporé sous pression réduite (2000 pascals). Le résidu est repris par de l'eau déminéralisée et acidifié par de l'acide chlorhydrique à 20 %. Après extraction avec de l'éther éthylique, la phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de sodium anhydre.
20 Après élimination de l'éther éthylique, on obtient une huile rouge qui est purifiée par chromatographie sur gel de silice en utilisant un mélange hexane / acétylène d'éthyle (95/5 en volume) comme éluant. Le rendement est de 54 %. L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par
25 spectroscopie PMR et par microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	62,24	7,60	15,06	15,10
% Trouvé	62,08	7,69	15,18	14,99

- 4 -

Exemple 2(+)-(méthyle-2 butyle thio)-4 catéchol(R = -CH₂-CH(CH₃)-CH₂-CH₃)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant
 5 le tosylate de *l*-méthyle-2 butyle à la place du tosylate de
 méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un
 rendement de 54 %. C'est une huile de couleur jaune ;
 $[\alpha]_D^{23} = +22,52$, $C = 0,6$, chloroforme. L'identité et la
 structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie
 10 PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	62,24	7,60	15,06	15,10
% Trouvé	62,21	7,67	15,22	15,01

Exemple 315 menthyl thio-4 catéchol (R = menthyl)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant
 le tosylate de menthyl à la place du tosylate de méthyle-2
 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de
 8 %. C'est un solide fondant à 124°C (Kofler). L'identité et
 20 la structure de ce composé ont été confirmées par
 spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les
 résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	68,53	8,63	11,41	11,43
25 % Trouvé	68,48	8,74	11,23	11,28

Exemple 4(+)-menthyl thio-4 catéchol (R = *l*-menthyl)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant

- 5 -

le tosylate de *l*-menthyl à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 10 %. C'est un solide fondant à 119°C (Kofler). $[\alpha]_D^{23} = + 93,98$, $C = 5$, éthanol. L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	68,53	8,63	11,41	11,43
% Trouvé	67,99	8,37	11,22	12,05

10 Exemple 5

(méthyle-1 heptyle thio)-4 catéchol (R = -CH(CH₃)-(CH₂)₅-CH₃)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de méthyle-1 heptane à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 26 %. C'est une huile. L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	66,10	8,70	12,58	12,60
% Trouvé	65,90	8,65	12,74	12,50

Exemple 6

(+)-(méthyle-1 heptyle thio)-4 catéchol

(R = -CH(CH₃)-(CH₂)₅-CH₃)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de *l*-méthyle-1 heptane à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 6,5 %. C'est une huile. $[\alpha]_D^{23} = + 7$, $C = 0,7$, chloroforme. L'identité et la structure de ce composé ont été

- 6 -

confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

		C	H	O	S
	% Calculé	66,10	8,70	12,58	12,60
5	% Trouvé	65,97	8,68	12,83	12,71

Exemple 7

phényle thio-4 catéchol (R = phényle)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de phényle à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 17 %. C'est un solide fondant à 164°C (Kofler). L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

		C	H	O	S
	% Calculé	66,03	4,62	14,66	14,69
15	% Trouvé	66,00	4,70	14,64	14,66

Exemple 8

cyclohexyle thio-4 catéchol (R = cyclohexyle)

En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de cyclohexyle à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 31 %. C'est un solide fondant à 148°C (Kofler). L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

- 7 -

	C	H	O	S
% Calculé	64,25	7,20	14,26	14,29
% Trouvé	64,19	7,31	14,23	14,27

Exemple 9

- 5 (diméthyle-3,5) phényle thio-4 catéchol
(R = (diméthyle-3,5) phényle)

10 En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de diméthyle-3,5 phényle à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 23 %. C'est une huile. L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S
% Calculé	68,26	5,73	12,99	13,02
15 % Trouvé	68,20	3,93	12,91	12,96

Exemple 10

- 20 (di-trifluorométhyle-2,6) phényle thio-4 catéchol
(R = (di-trifluorométhyle-2,6) phényle)

25 En procédant comme dans l'exemple 1 mais en utilisant le tosylate de (di-trifluorométhyle-2,6) phényle à la place du tosylate de méthyle-2 butyle, le composé ci-dessus a été obtenu avec un rendement de 13 %. C'est un solide fondant à 110°C (Kofler). L'identité et la structure de ce composé ont été confirmées par spectroscopie PMR et microanalyse élémentaire avec les résultats suivants.

	C	H	O	S	F
% Calculé	47,46	2,28	9,03	9,05	32,18
% Trouvé	47,36	2,55	8,98	8,98	32,13

PHARMACOLOGIE

Les lipoxygénases (LOs) convertissent l'acide arachidonique (AA) en dérivés hydroxy et leucotriènes. Ces produits sont des agents pharmacologiques puissants susceptibles de jouer des rôles importants dans les désordres inflammatoires ou d'hypersensibilité. Plusieurs LOs agissent sur le AA et principalement

- la 5 LO conduit aux leucotriènes
- la 12 LO conduit à l'acide hydro-12 peroxy-eicosatétraénoïque (12 HPETE) et à d'autres composés hydroxy-12,
- la 15 LO conduit à 15 HPETE et à d'autres composés hydroxy-15,
- et, en proportions sensiblement inférieures, les 8 LO et 11 LO.

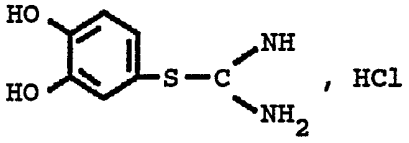
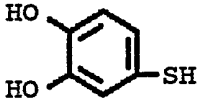
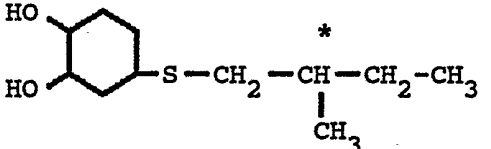
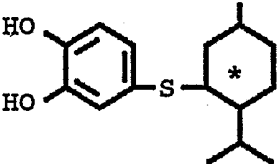
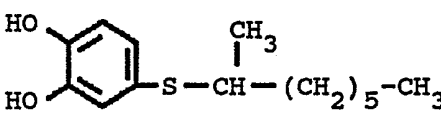
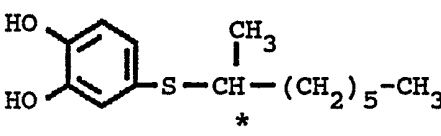
1) Recherche "in vitro" d'activité inhibitrice potentielle de 7 composés sur la lipoxygénase de la fève de soja

La méthode employée a été celle de Corey E.J. et al. (J. Amer. Chem. Soc, 104, 1750-1752 ; 1982). Dans un volume final de 1,8 ml, on a mélangé 0,2 M de tampon Borax aéré avec 500 unités de lipoxygénase de fèves de soja. Au moment de tester les inhibiteurs, on les ajoute dans 0,6 ml de liquide pour que les concentrations finales s'étagent entre 10^{-3} M et 10^{-8} M puis on procède à une préincubation pendant 10 minutes à la température ambiante. La réaction est démarrée par l'addition d'acide arachidonique à 10^{-4} M. On procède ensuite à l'incubation à la température ambiante pendant 90 minutes et on détermine la 15-HPETE par mesure d'absorption à 236 nm. Pour chaque expérience, on a utilisé comme contrôle la lipoxygénase portée à ébullition afin de tenir compte de toute absorption éventuelle de ces composés à la longueur d'onde de l'expérience. Le pourcentage d'activité enzymatique a été

- 9 -

calculé pour chaque concentration et la quantité de substance requise pour inhiber 50 % de l'activité d'enzymes a été calculée par régression linéaire sur un ensemble de points de données correspondant au logarithme du pourcentage de la

5 concentration molaire d'inhibition.

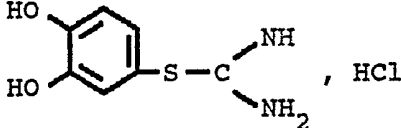
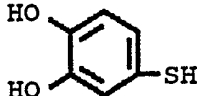
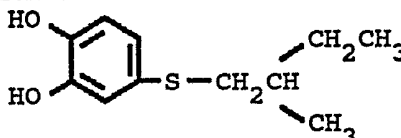
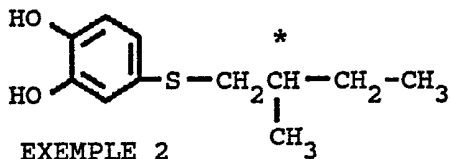
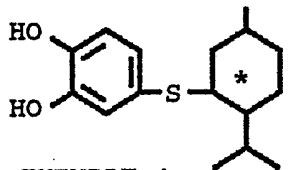
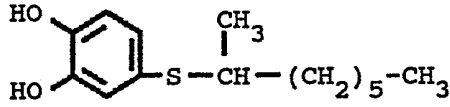
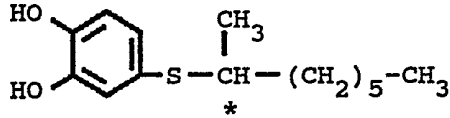
Composés	CI ₅₀ (concentration correspondant à 50 % d'inhibition)
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2c[nH]c2N)N</chem> , HCl	Pas actif
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2ccccc2S)S</chem>	9,30 10 ⁻⁵ M
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2ccccc2SCC(C)CC)C</chem> EXEMPLE 2	1,04 10 ⁻⁴ M
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2ccccc2SC3CCCC(C)C3)C</chem> EXEMPLE 4	2,41 10 ⁻⁵ M
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2ccccc2SCC(C)CCCCC)C</chem> EXEMPLE 5	2,76 10 ⁻⁵ M
 <chem>Oc1ccc(cc1Oc2ccccc2SCC(C)CCCCC)C</chem> EXEMPLE 6	2,45 10 ⁻⁵ M
Diphénylthiocarbazone	1,61 10 ⁻⁶ M

- 11 -

2) Etude de l'inhibition potentielle "in vitro" de l'anion superoxyde (O_2^-)

La méthode employée a été identique à celle de Del Maestro, R.F., J. Bjork et K.E. Arfors (Microvascular Res. 22, 239-254 ; 1981), c'est-à-dire la réduction du cytochrome c^{3+} (Cyt c^{3+}) a été effectuée dans un système comprenant 0,96 mM d'hypoxanthine, $5 \cdot 10^{-5}$ M de Cyt c^{3+} dans un tampon de bicarbonate pH = 7,35 (0,132 M NaCl, $4,7 \cdot 10^{-3}$ M KCl, $2 \cdot 10^{-3}$ M $CaCl_2$, $1,2 \cdot 10^{-3}$ M $MgSO_4$, 0,018 M $NaHCO_3$). La réaction est démarrée par l'addition de xanthine oxydase à la concentration de 0,07 U/ml. L'augmentation d'absorption à 550 nm a été mesurée à 37°C dans une cellule spectrophotométrique thermostatique, toutes les minutes, pendant 4 minutes.

Chaque composé expérimenté était ajouté avant la xanthine oxydase. L'unité d'activité était définie comme un changement de 0,001 unité/min. Le pourcentage d'activité enzymatique a été calculé pour chaque concentration de chaque composé expérimenté et la quantité de substance nécessaire pour inhiber à 50 % l'enzyme (CI_{50}) a été calculée par régression linéaire sur un ensemble de points de données correspondant au logarithme du pourcentage de la concentration molaire d'inhibition. Les valeurs correspondantes sont reportées dans le tableau ci-après.

Composés	O_2^- Scavenger CI_{50} (concentration correspondant à 50 % d'inhibition)
 <chem>N#CC(=N)Sc1ccc(O)c(O)c1</chem> , HCl	$1,00 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 <chem>Sc1ccc(O)c(O)c1</chem>	$4,91 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
 <chem>CC(C)CCSc1ccc(O)c(O)c1</chem> EXEMPLE 1	$4,48 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
 <chem>CC(C)CCSc1ccc(O)c(O)c1</chem> EXEMPLE 2	$1,97 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
 <chem>CC1CCCCC1Sc2ccc(O)c(O)c2</chem> EXEMPLE 4	$2,41 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
 <chem>CCCCCCC(C)Sc1ccc(O)c(O)c1</chem> EXEMPLE 5	$4,48 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
 <chem>CCCCCCC(C)Sc1ccc(O)c(O)c1</chem> EXEMPLE 6	$7,76 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
Camphérol	$9,05 \cdot 10^{-6} \text{ M}$
Dihydroxy-3,4 phényle acétique acide	$3,87 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

- 13 -

3) Expérimentation "in vitro" des composés sur le métabolisme de la cascade arachidonique de microsomes de plaquettes humaines

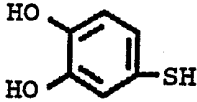
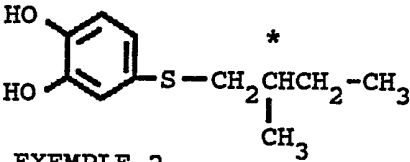
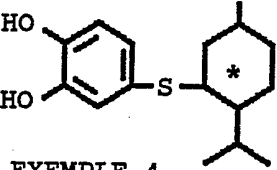
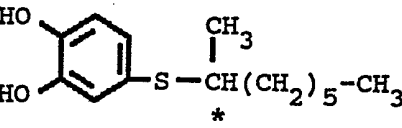
5 Cette expérimentation enzymatique a été conduite dans
de la verrerie siliconée selon la méthode de P. Ho, P. Walters
et H. Sullivan (Prostaglandine 12, 951 ; 1976). Le mélange
réactionnel contenant 50 mM de tampon Tris HCl, pH = 7,9, 5mM
de tryptophane-2, 2 M de méthémoglobine, 0,2 mg de poudre de
10 microsomes, plus le composé à tester, dans un volume total de
0,2 ml, a été incubé à 37°C pendant 5 minutes avant l'addition
de 10 µl de 20 µM d'acide arachidonique C¹⁴ (0,08 µCI). Après 5
autres minutes d'incubation, la réaction est ensuite arrêtée
par addition de 10 µl d'acide citrique M.

15 Le mélange réactionnel a été ensuite extrait quatre
fois par 0,5 ml d'éther éthylique anhydre puis séché sur
sulfate de sodium. Le résidu a été ensuite remis en suspension
dans environ 40 µl d'éther puis chromatographié sur plaques de
gel de silice. L'éluant utilisé était l'éther éthylique /
méthanol / acide acétique (90/1/2). Les valeurs de RF ont été
20 mesurées par rapport à l'acide arachidonique. Les
chromatographies en plaques minces ont été ensuite exposées
sur ultra-film LKB pendant environ 24 heures. L'identification
des différentes taches a été effectuée selon les méthodes
classiques (PGA₂, PGB₂, PGE₂, PGF_{2C}, PXB₂, acide
25 arachidonique) dans le même système de solvants.

Les résultats quantitatifs ont été obtenus par mesure
de densité du film développé à l'aide d'un densitomètre à
transmission (EC 910) combiné à un intégrateur Hewlett Packard
3390A. Comme standards positifs pour l'inhibition spécifique
30 de la thromboxane synthétase et de la cyclooxygénase ont été
utilisées l'imidazole et l'indométhacine.

Les résultats sont reportés dans le tableau ci-après.

Inhibition de la cyclooxygénase

Composés	CI ₅₀ (concentration correspondant à 50 % d'inhibition)
	9,23 10 ⁻⁶ M
 EXEMPLE 2	4,31 10 ⁻⁶ M
 EXEMPLE 4	1,68 10 ⁻⁵ M
 EXEMPLE 6	3,46 10 ⁻⁶ M
Indométhacine	1,12 10 ⁻⁵ M
Phénylbutazone	2,74 10 ⁻⁴ M

L'activité des substances de la cyclooxygénase est quantifiée par les deux taches correspondant aux PGE₂ et TxB₂ (rapport PGE₂/TxB₂).

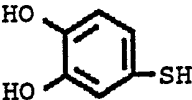
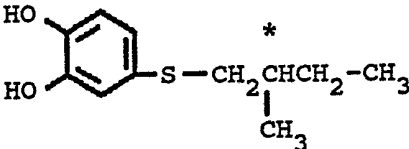
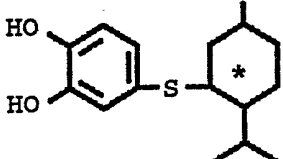
- 15 -

4) Essai de l'inhibition "in vitro" de la prostaglandine synthétase sur les microsomes de vésicule séminale de béliet

Cette expérimentation a été conduite selon les méthodes de Baumann et al (Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm. 307, 73 ; 1979) et Takeguchi, C. et al (Biochem. 10, 2372 ; 1971). Le dosage enzymatique par molécules marquées a été effectué dans de la verrerie siliconée. Le mélange réactionnel, contenant 50mM de tampon Tris HCl, pH = 8,3, en présence de 1mM de glutathion réduit (GSH), de 0,55 mM d'hydroquinone, du composé à tester et 50 µg de poudre de microsomes de vésicule séminale de béliet dans un volume total de 0,2 ml, a été incubé pendant 5 minutes à 37°C avant l'addition de 10 µl d'acide arachidonique 10^{-6} M marqué au carbone 14 (0,08 µCi). Après 30 minutes d'incubation, en agitant de temps à autres, la réaction a été arrêtée par addition de 10 µl d'acide citrique M.

Le mélange réactionnel a été ensuite extrait quatre fois à l'aide de 0,5 ml d'éther éthylique anhydre puis séché sur sulfate de sodium. Le résidu a alors été remis en suspension dans environ 40 µl d'éther puis soumis à chromatographie sur plaques de gel de silice. L'éluant était l'éther éthylique / méthanol / acide acétique (45/1/2). Les valeurs de RF ont été mesurées par rapport à l'acide arachidonique. Les chromatographies en plaques minces ont ensuite été exposées sur ultra-film LKB pendant environ 20 heures. L'identification des taches a été effectuée selon les méthodes classiques (PGE_1 , PGE_2 , PGG_{1a} , PGF_{2a} , PGA_1 , PGA_2 , PGB_1 , PGB_2) dans le même système de solvants. Les résultats quantitatifs ont été obtenus par densitométrie et sont reportés dans le tableau ci-après.

- 16 -

Composés	Autoradiographes quantification % variation		
	PGF ₂ a	PGE ₂	PGD ₂
 $8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	+ 64,25	- 44,77	- 19,53
 $3,2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ EXEMPLE 2	+ 20,19	- 5,48	+ 11,70
 $3,2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ EXEMPLE 4	- 17,97	- 2,05	- 2,06
Phénylbutazone $8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	- 43,36	- 15,37	- 21,98

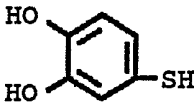
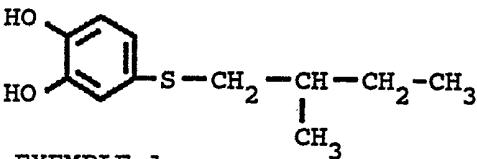
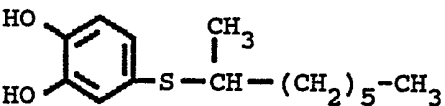
- 17 -

5) Expérimentation "in vitro" des composés comme inhibiteurs potentiels de la xanthine oxydase

L'activité xanthique oxydase a été déterminée par la méthode de H.M. Kalckar (J. Biol. Chem. 167, 429-443, 1947) qui mesure, par voie spectrophotométrique, la formation d'acide urique.

Dans une cuvette spectrophotométrique, on a mis de la xanthine oxydase de telle sorte que la concentration finale soit de 0,01 unité/ml, du tampon phosphate 0,05M, pH = 7,4, ou l'inhibiteur. La réaction est démarrée par l'addition de xanthine à la concentration finale de $5 \cdot 10^{-5}$ M. La libération d'acide urique a été suivie sous 295 nm toutes les 30 secondes pendant 2 minutes (phase linéaire). Une unité d'activité a été définie comme changement de 0,001 unité/minute. Le pourcentage d'activité enzymatique a été calculé pour chaque concentration des composés testés ainsi que la quantité de substance nécessaire pour inhiber 50 % de l'enzyme (CI_{50}), par régression linéaire sur un ensemble de points de données correspondant au logarithme du pourcentage de la concentration molaire d'inhibition.

Les résultats sont reportés dans le tableau ci-après.

Composés	CI ₅₀ (concentration correspondant à 50 % d'inhibition)
	2,37 10 ⁻⁴ M
 EXEMPLE 1	5,11 10 ⁻⁴ M
 EXEMPLE 5	5,57 10 ⁻⁴ M
Acide folique	6,76 10 ⁻⁷ M
Camphérol	7,89 10 ⁻⁶ M

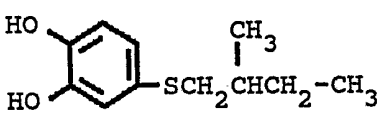
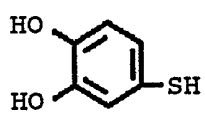
- 19 -

6) Inhibition de la lipoxigénase des leucocytes humains

a) Inhibition des 5- et 12- lipoxigénases des leucocytes polynucléaires

Protocole expérimental

- 5 1. Incubation de 15×10^6 leucocytes humains/ml avec 2mM de Ca^{2+} , 0,5 mM de Mg^{2+} en présence des inhibiteurs à 37°C pendant 20 minutes.
2. Stimulation à l'aide de 1 μg ionophore (A23187)/ml pendant 4 minutes.
- 10 3. Interruption de l'incubation par addition d'un volume de méthanol.
4. Analyse chromatographique par RP-HPLC, colonne C18, 5 μm .
5. Mesure de la hauteur des pics et comparaison
- 15 avec l'étalon interne (PGB_2).

Produits	CI_{50}		
	5-HETE	LTB_4	12-HETE
 EXEMPLE 1	10^{-6} M	10^{-6} M	10^{-6} M
	$2 \times 10^{-6} \text{ M}$	$2 \times 10^{-6} \text{ M}$	$2 \times 10^{-6} \text{ M}$

- 20 -

b) Inhibition des 5-, 12- et 15- lipoxygénases des leucocytes polynucléaires

Protocole expérimental

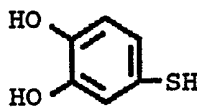
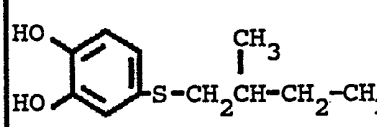
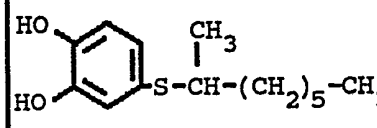
1. Incubation de 11×10^6 leucocytes humains/ml
5 avec les inhibiteurs pendant 20 minutes (2 mM Ca^{2+} et $0,5 \text{ mM Mg}^{2+}$) à 37°C .

2. Stimulation par $10 \mu\text{g}$ d'acide arachidonique et $1 \mu\text{g}$ d'ionophore (A23187)/ml pendant 4 minutes.

3. Interruption de l'incubation par addition d'un
10 volume de méthanol.

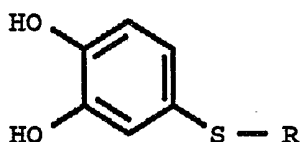
4. Analyse chromatographique RP-HPLC.

5. Mesure de la hauteur des pics et comparaison avec l'étalon interne.

Produits	CI_{50}				
	5-HETE	12-HETE	15-HETE	HHT	LTB_4
	10^{-6}M	$2 \cdot 10^{-6}\text{M}$	$5 \cdot 10^{-5}\text{M}$	$2 \cdot 10^{-5}\text{M}$	$3 \cdot 10^{-6}\text{M}$
 EXEMPLE 1	10^{-6}M	10^{-5}M	10^{-5}M	$5 \cdot 10^{-5}\text{M}$	$3 \cdot 10^{-6}\text{M}$
 EXEMPLE 5	10^{-6}M	$2 \cdot 10^{-6}\text{M}$	10^{-5}M	$2 \cdot 10^{-6}\text{M}$	10^{-6}M

REVENDICATION

1°) Médicaments contenant, comme principe actif, un dérivé du catéchol répondant à la formule générale



I

dans laquelle

- 5 R représente un radical hydrocarboné acyclique en chaîne droite ou ramifiée contenant de 1 à 8 atomes de carbone, l'un de ces atomes de carbone étant éventuellement asymétrique, un radical mono- ou bicycloalcoyl éventuellement substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyle comprenant de 1 à 7 atomes de
- 10 carbone, l'un des atomes de carbone du radical mono- ou bicycloalcoyl étant éventuellement asymétrique, un radical phényle, un radical halophényle, un radical nitrophényle ou un radical phényle substitué par un ou plusieurs radicaux alcoyle ayant de 1 à 7 atomes de carbone, ou par des radicaux
- 15 trifluorométhyle ou par des radicaux COOY dans lesquels Y est un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone ; ou un sel thérapeutiquement acceptable de ces dérivés, associé à tout diluant ou excipient approprié.