

Article original

Dérivés alkylés et arylés de l'acide nipécotique: synthèse et appréciation de l'activité inhibitrice de la capture du GABA en fonction de paramètres conformationnels et de biodisponibilité

Gérard LAPUYADE¹, Gilbert SCHLEWER^{1*}, Victor N'GOKA¹, Jean-Claude VERNIERES², Jean-Pierre CHAMBON², Jeanine LAGRANGE³, Philippe LAGRANGE³ et Camille Georges WERMUTH¹

¹Laboratoire de Pharmacochimie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, B.P. 10, 67048 Strasbourg Cedex,

²Ligne Neurobiologie, Sanofi Recherche, rue du Professeur J. Blayac, 34082 Montpellier Cedex, et

³Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Strasbourg, ERA 166, 67008 Strasbourg Cedex, France

(Reçu le 16 décembre 1986, accepté le 16 mars 1987)

Résumé — Les analogues de l'acide nipécotique, substitué dans les positions 2, 3, 4, 5 et 6 par un reste méthyle ou phényle, ont été préparés. Leurs affinités pour le système de transport du GABA et les sites récepteurs du GABA ont été déterminés. On observe que l'influence favorable des substituants méthyle ou phényle sur la lipophilie est contrariée par des effets conformationnels (prédominance du conformère à carboxyle axial, inactif) et/ou, par des effets électroniques (proportion de la population zwitterionique).

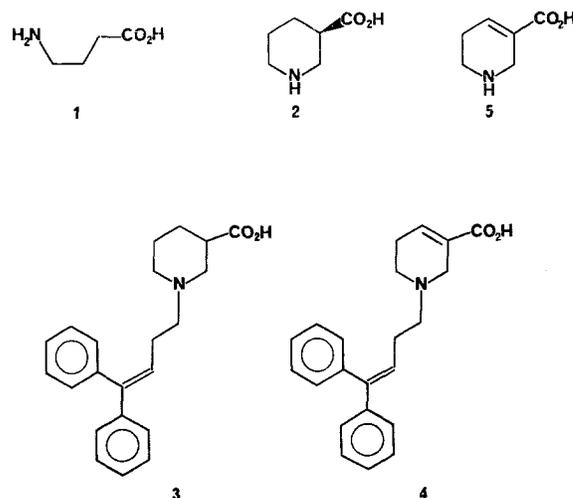
Summary — Alkyl and aryl derivatives of nipecotic acid: synthesis and inhibition of GABA uptake as a function of conformational parameters and bioavailability. Analogs of nipecotic acid, substituted at positions 2, 3, 4, 5, or 6 with a methyl or phenyl group were prepared and their affinities for the GABA transport protein and the GABA receptor sites were measured. The expected beneficial increase in lipophilicity was however counteracted by conformational effects (predominance of the inactive conformer presenting an axial carboxylic group) and/or electronic effects (proportion of the zwitterionic population).

nipecotic acid / GABA uptake

Introduction

Des déficiences en acide γ -aminobutyrique (GABA) **1** ont été évoquées pour expliquer des maladies telles que l'épilepsie, la chorée de Huntington, ou des troubles du comportement comme la schizophrénie [1, 2]. Pour restaurer la concentration nominale de ce neurotransmetteur dans la fente synaptique on peut chercher à inhiber les systèmes de capture du GABA [3—8]. L'acide *R* (—)nipécotique **2** est un des meilleurs inhibiteurs de la capture du GABA actuellement connu [9]. Il présente cependant l'inconvénient de ne pas franchir la barrière hématoencéphalique ce qui exclut son emploi en thérapeutique.

Des dérivés plus lipophiles de l'acide nipécotique, *N*-substitués par des restes arylalcanoïques et actifs *in vivo*, ont été décrits récemment par les chercheurs de la firme Smith, Kline & French. En particulier les composés **3** et **4** dans lesquels deux noyaux aromatiques sont branchés sur une chaîne carbonée de quatre atomes de carbone, sont actifs sur les tests de protection aux convulsions induites



* Auteur à qui la correspondance doit être adressée.

par électrochocs ou par le pentylènetétrazol chez le rat et la souris [10].

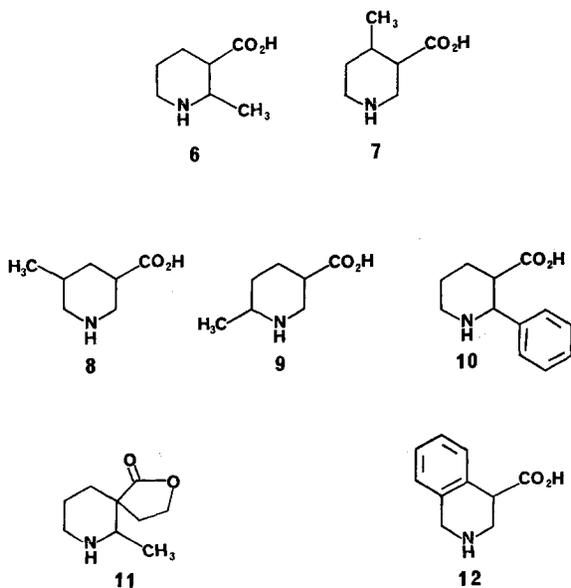
L'acide nipécotique nous a servi comme squelette de base en vue de la synthèse de divers analogues. Nos études ont visé à déterminer la topographie la plus adéquate permettant d'assurer une bonne affinité pour les sites de transport. Elles nous ont amené récemment à préparer des dérivés de l'acide nipécotique substitué par un reste méthyle et à en publier l'analyse conformationnelle [11].

Nous rapportons plus spécialement ici la synthèse de nouveaux dérivés de l'acide nipécotique, substitués par un reste méthyle ou phényle et d'un analogue partiellement rigidifié dérivant de la guvacine **5**. Au total, nous disposons maintenant de l'ensemble des analogues de l'acide nipécotique substitués par un reste méthyle ou phényle dans les positions 2, 3, 4, 5 et 6 ainsi que de quelques analogues rigidifiés. Cet ensemble de composés devrait nous permettre d'étudier les influences stériques, électroniques ou de la lipophilie sur l'activité inhibitrice de la capture du GABA. Nos résultats sont discutés en fonction de données topographiques, résultant d'une analyse conformationnelle et en fonction de paramètres de biodisponibilité. Ces derniers ont été appréciés par la détermination des rapports entre les populations des espèces zwitterioniques (*I*) et celles des espèces non-ionisées (*U*) selon la méthode de Wegscheider [13].

Synthèse

La synthèse et l'analyse conformationnelle des acides méthyl-2 **6**, méthyl-4 **7**, méthyl-5 **8** et méthyl-6 **9** nipécotiques et de l'acide phényl-2 nipécotique **10** ont été publiés récemment par notre équipe [11].

Le chlorhydrate de méthyl-1 aza-2 oxaspiro-8[5,4]-décanone-7 **11** a été décrit par Albertson qui l'a préparé à partir d'acéto-2 butyrolactone [12]. L'acide tétrahydro-



1,2,3,4 isoquinoléine-carboxylique **12** a été préparé à partir d'une halo-4 isoquinoléine selon le schéma décrit par Shiotami [14].

Les acides méthyl-3- et éthyl-3-nipécotiques **16** et **17** ont été synthétisés selon les indications portées sur le Schéma 1. Après protection de la fonction amine du nipécotate d'éthyle **13** par un reste benzoyle, **14**, on procède à l'alkylation de la position 3 par l'action de l'iodure de méthyle ou d'éthyle sur l'anion formé en α de la fonction ester, **15**. Il suffit ensuite de saponifier l'ester et de libérer l'amine pour aboutir aux deux acides attendus **16** et **17**.

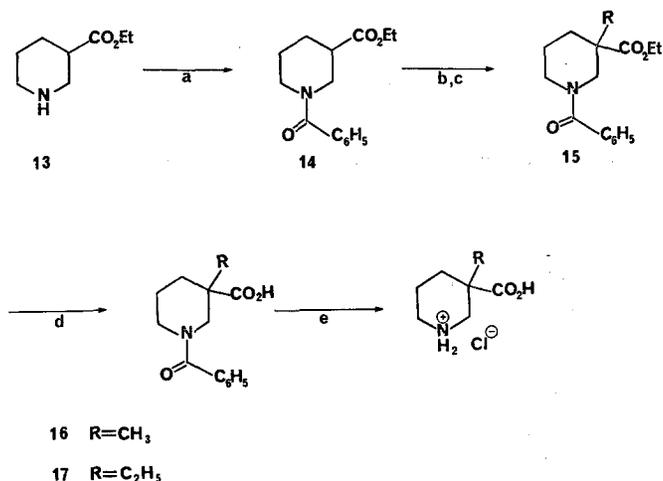


Schéma 1. Schéma de synthèse des chlorhydrates des acides méthyl-3 et éthyl-3 nipécotiques. a: C₆H₅COCl; b: *n*BuLi; c: RI; d: NaOH; e: HCl.

L'acide phényl-3 nipécotique **22** (Schéma 2) a été préparé à partir de phényl-2 cyano-acétate d'éthyle **18**. Celui-ci a été alkylé par l'action du chloro-3 bromo-1 propane [15]. La réduction du chloronitrile **19** selon le protocole de Jacoby [16] fournit la chloro-amine **20**. Celle-ci a été cyclisée puis l'ester obtenu **21** a été saponifié pour conduire à l'acide phényl-3 nipécotique **22**.

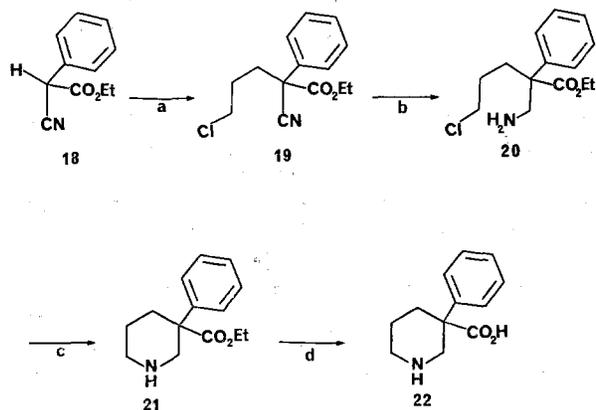


Schéma 2. Schéma de synthèse de l'acide phényl-3 nipécotique. a: Br(CH₂)₃Cl, NaOEt; b: H₂, Pd/C; HCl; c: EtOH; d: H₂O.

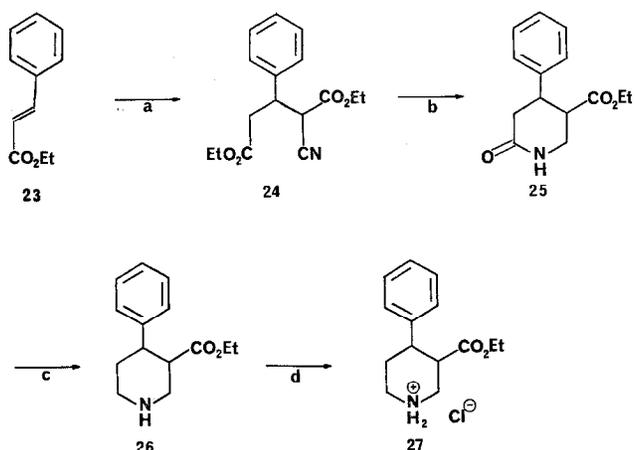


Schéma 3. Schéma de synthèse de l'acide phényl-4 nipécotique. a: $\text{NC-CH}_2\text{-CO}_2\text{Et}$; b: H_2 , PtO_2 , HCl ; c: Me_3OBF_4 , NaBH_4 ; d: H_2O , HCl .

La synthèse de l'acide phényl-4 nipécotique **27** prend le cinnamate d'éthyle **23** comme produit de départ (Schéma 3). Sa condensation avec le cyano-acétate d'éthyle fournit le cyano-2 phényl-3 glutarate d'éthyle **24** [17]. Par réduction catalytique, suivie d'une cyclisation thermique, nous avons obtenu l'amide **25** [18] qui a été réduit selon les indications de Borch [19]. La transformation n'est que partielle. L'hydrolyse de l'ester **26** en milieu acide fournit les diastéréoisomères de l'acide phényl-4 nipécotique **27** dans un rapport 1/1.

La synthèse de l'acide phényl-5 nipécotique **31** résulte de la séquence figurant sur le Schéma 4. Après transfor-

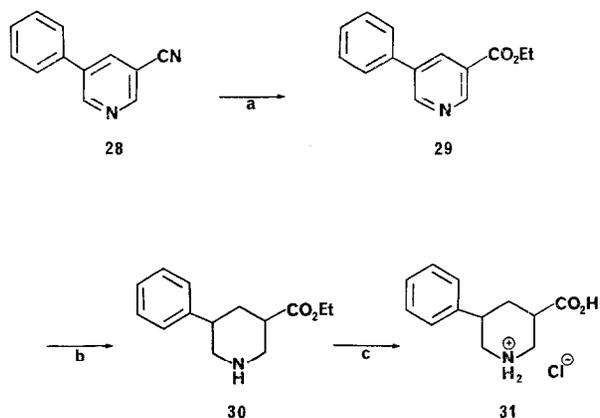


Schéma 4. Schéma de synthèse de l'acide phényl-5 nipécotique. a: EtOH , HCl ; b: H_2 , PtO_2 , HCl ; c: AcOH , HCl .

mation du phényl-5 nicotinonitrile **28** [20] en ester **29** le noyau pyridinique a été hydrogéné en milieu acide pour fournir l'acide pipéridine-3 carboxylique **30**. L'hydrolyse acide de l'ester a abouti à un mélange de diastéréoisomères du chlorhydrate de l'acide phényl-5 nipécotique **31**. L'acide phényl-6 nipécotique **35** (Schéma 5) a été préparé par

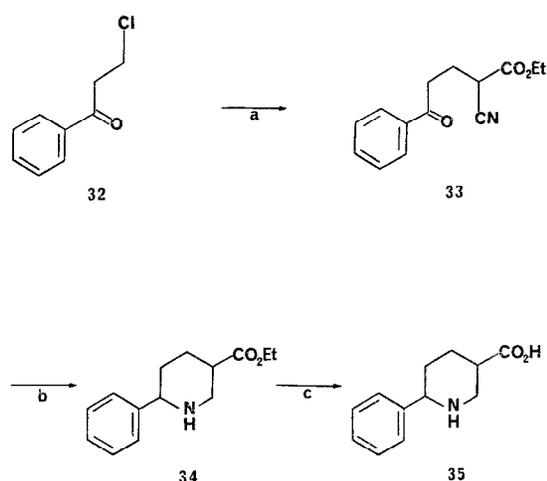


Schéma 5. Schéma de synthèse de l'acide phényl-6 nipécotique. a: $\text{NC-CH}_2\text{-CO}_2\text{Et}$, NaOEt ; b: H_2 , Ni Raney ; c: H_2O .

hydrolyse de son ester **34** dans les mêmes conditions que pour les acides précédents. Cet ester éthylique a été lui-même obtenu par une hydrogénation, accompagnée d'une cyclisation du cyano-2 benzoyl-4 butyrate d'éthyle **33**. Celui-ci résulte de l'action de la chloropropiophénone sur le cyano-acétate d'éthyle (Schéma 5).

La synthèse de la méthyl-6 guvacine **44** s'inspire de celle développée par Krogsgaard-Larsen pour la synthèse de la guvacine et du THIP (4,5,6,7-tétrahydroisoxazolo[5,4-c]-pyridin-3-ol) [21]. Elle commence par une addition de Michaël de la benzylamine sur le crotonate d'éthyle **36** pour donner naissance au benzylamino-3 butyrate d'éthyle **37** qui a été condensé avec l'acrylate d'éthyle. Le diester **38** ainsi obtenu a été débenzylé et l'amine secondaire a été protégée à nouveau par formation d'un carbamate **39**. Ce dernier a été cyclisé par une réaction de Dieckman. La pipéridinone **40** obtenue a été réduite en pipéridinol **41** par hydrogénation catalytique puis transformée en acétate **42**. Après formation de la double liaison par élimination d'acide acétique, le produit protégé **43** a été hydrolysé. Enfin, la fonction amine a été régénérée pour obtenir le chlorhydrate de la méthyl-6 guvacine **44** (Schéma 6).

Résultats et Discussion

Tous les dérivés de l'acide nipécotique et de la guvacine dont la synthèse a été décrite ci-dessus ont été testés sur l'inhibition de la capture du GABA en prenant l'acide nipécotique et la guvacine comme références. Parallèlement, l'absence d'affinité pour les récepteurs postsynaptiques du GABA (GABA-A) a été vérifiée. L'étude *in vivo* a porté sur la potentialisation du sommeil aux barbituriques et sur la protection des convulsions induites par la bicuculline ou par des électrochocs. Les résultats ont été interprétés en relation avec les mesures physicochimiques de biodisponibilité et d'analyse conformationnelle.

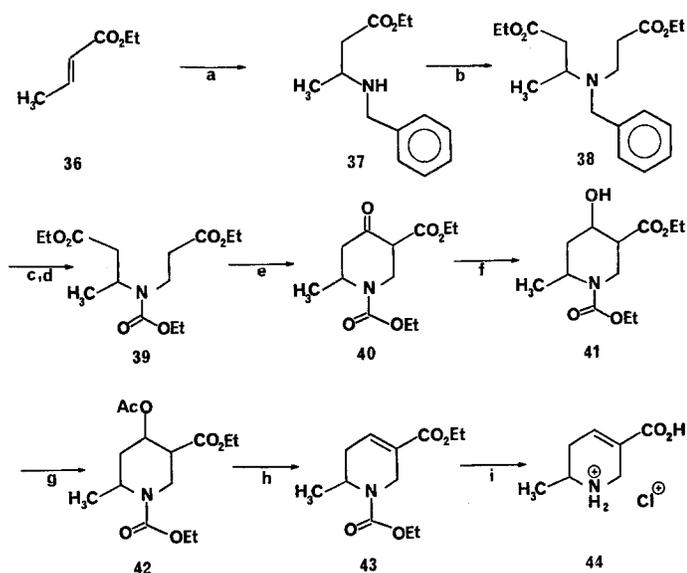


Schéma 6. Schéma de synthèse du chlorhydrate de la méthyl-6 guvacine. a: $H_2NCH_2C_6H_5$; b: $CH_2=CH-CO_2Et$; c: H_2 , Pd/C; d: $ClCO_2Et$; e: $NaOEt$; f: H_2 , Ni Raney; g: Ac_2O ; h: DBN; i: HCl , H_2O .

Les résultats des essais biochimiques sont rassemblés dans les Tableaux I et II. On observe que l'introduction d'un reste alkyle ou aryle sur l'acide nipécotique entraîne une forte chute de l'activité. En particulier, un substituant aromatique directement greffé sur le cycle pipéridinique semble très mal accepté, ceci quelle que soit la position de greffage de ce phényle. Parmi les dérivés alkylés, seuls les acides méthyl-6 et éthyl-3 nipécotiques présentent une amorce d'activités vis-à-vis des systèmes de capture. Cette

activité semble améliorée lors de l'introduction d'une double liaison dans le cycle (méthyl-6 guvacine). Les faibles activités observées pour les dérivés de l'acide nipécotique peuvent avoir plusieurs origines. Une première cause peut être de nature stérique. Le volume propre des substituants pourrait empêcher l'approche du site d'interaction. En ce qui concerne la position 5, cet empêchement ne semble pas pouvoir être retenu puisque des dérivés de la guvacine et de l'arécoline substitués par de gros restes aromatiques ont été décrits récemment comme possédant des activités remarquables sur la capture du GABA [22]. Une seconde cause pourrait être de nature conformationnelle. En effet, les synthèses exposées plus haut conduisent à des mélanges de diastéréoisomères. Leur étude par spectrométrie RMN permettait, les deux substituants du cycle se plaçant en position équatoriale, conférant ainsi à la molécule une forme relativement plane; mais lorsque les deux substituants ne peuvent pas occuper simultanément une position équatoriale, la fonction carboxylique s'oriente de façon axiale, probablement du fait d'une interaction favorable avec l'amine du cycle. Ainsi, pour l'acide méthyl-5 nipécotique 8 les deux conformations représentées sur la Fig. 1 ont pu être déterminées par RMN du proton grâce à des séquences de double irradiation et une analyse bidimensionnelle. Par ailleurs, l'étude par radiocristallographie du phényl-2 nipécotate d'éthyle a montré que la fonction ester carboxylique était axiale et que la distance oxygène—azote



Fig. 1. Configurations et conformations de l'acide méthyl-5 nipécotique.

Tableau I. Effets sur l'inhibition de la capture du GABA et sur les récepteurs postsynaptiques du GABA *in vitro*.

Nom	N°	(Réf.)	Inhibition de la capture $IC_{50} \mu M^a$	Affinité pour les récepteurs postsynaptiques $IC_{50} \mu M$
Acide méthyl-2 nipécotique	6	(11)	> 100 (14)	> 100
Acide méthyl-3 nipécotique	16	(10)	> 100 (10)	> 100
Acide méthyl-4 nipécotique	7	(11)	> 100 (23)	> 100
Acide méthyl-5 nipécotique	8	(11)	> 100 (0)	> 100
Acide méthyl-6 nipécotique	9	(11)	> 100 (37)	> 100
Acide éthyl-3 nipécotique	17	(38)	> 100 (38)	> 100
Acide phényl-2 nipécotique	10	(11)	> 100 (1)	> 100
Acide phényl-3 nipécotique	22	(18)	> 100 (18)	> 100
Acide phényl-4 nipécotique	27	(1)	> 100 (1)	> 100
Acide phényl-5 nipécotique	31	(13)	> 100 (13)	> 100
Acide phényl-6 nipécotique	35	(10)	> 100 (10)	> 100
Méthyl-6 guvacine	44		40	—
Méthyl-1 aza-2 oxaspiro-8 [5,4] décanone-7	11	(12)	> 100 (9)	> 100
Tétrahydro-1,2,3,4 iso-quinoléine carboxylique-4	12	(13)	> 100 (19)	> 100
Acide nipécotique	2	(3)	10 (87)	—
Guvacine	5	(3)	13	—
GABA	1	(3)	—	0,1

^a % de radioactivité déplacée à 10^{-4} M.

Tableau II. Résultats pharmacologiques des analogues de l'acide nipécotique *in vivo*.

Nom	Toxicité mg/kg	Potentialisation au nembotal mg/kg	Activité anti-convulsivante	
			protection à la bicuculline mg/kg	protection à l'électrochoc mg/kg
Acide méthyl-2 nipécotique	atoxique à 100	10% à 250	inactif à 250	inactif à 250
Méthyl-2 nipécotate d'éthyle	100% à 500	10% à 500	inactif à 50	10% à 100
Méthyl-4 nipécotate d'éthyle	atoxique à 500	—	20% à 100	inactif à 100
Méthyl-6 nipécotate d'éthyle	atoxique à 250	—	inactif à 100	inactif à 100
Phényl-2 nipécotate d'éthyle	100% à 250	70% à 50	inactif à 50	20% à 50
Phényl-3 nipécotate d'éthyle	100% à 100	—	30% à 25	10% à 25
Phényl-4 nipécotate d'éthyle	atoxique à 500	10% à 250	inactif à 250	inactif à 250
Acide phényl-5 nipécotique	atoxique à 500	10% à 250	33% à 250	inactif à 250
Phényl-5 nipécotate d'éthyle	atoxique à 250	20% à 250	40% à 250	inactif à 250

était compatible avec une liaison de type hydrogène (Fig. 2) [11]. Or l'examen des données de la littérature indique que pour l'acide nipécotique, tant à l'état cristallin qu'en solution, la fonction carboxylique est orientée de façon équatoriale [23]. L'activité faible observée pour nos dérivés de l'acide nipécotique pourrait n'être due qu'à la contribution du diastéréoisomère diéquatorial présent dans le mélange. Pour les produits du type 3 et 4 développés par SKF ce problème conformationnel n'existe pas puisqu'il s'agit de produits substitués sur l'azote. Par inversion de l'azote, il est toujours possible d'obtenir une structure dans laquelle les deux groupes occupent une orientation équatoriale. Par analogie aux acides méthyl-2 et phényl-2 nipécotique, il est raisonnable de penser que pour le composé spirannique 11 le carboxylate est également orienté de façon axiale. Enfin pour l'acide isoquinoleine carboxylique 12, le signal du proton H₃ se présente sous forme d'un triplet élargi avec des constantes de couplages permettant de conclure à une orientation équatoriale du proton H₄. Le carboxyle se trouve donc, une fois encore en position axiale, position qui serait impropre à l'activité inhibitrice. Afin d'étayer cette hypothèse, nous avons préparé un dérivé dans lequel le carboxyle était contraint à une orientation «équatoriale», c'est-à-dire dans le plan moyen du cycle, en l'occurrence la méthyl-6 guvacine 44. L'activité de ce composé est, *in vitro*, un peu moins élevée que celle de la guvacine elle-même mais reste du même

ordre de grandeur. Sachant que nous avons préparé un composé racémique, ce résultat est tout à fait encourageant. Effectivement, si l'on compare l'activité de la méthyl-6 guvacine 44 à celle de l'acide méthyl-6 nipécotique 9, on constate une très nette amélioration.

Les dérivés décrits ici ne présentent aucune affinité significative pour les récepteurs postsynaptiques du GABA (Tableau I).

Malgré les faibles activités observées *in vitro*, certains de ces dérivés de l'acide nipécotique ont été essayés *in vivo*. Ils ne présentent guère d'activité, ni sur la potentialisation au nembotal [24] ni sur la protection des convulsions induites par la bicuculline [25] ou encore celles induites par électrochoc [26]. Nous avons observé cependant une très légère amélioration lorsque l'on administre ces dérivés sous la forme de leurs esters éthyliques (Tableau II).

Les substituants introduits dans les positions 1—6 augmentent la lipophilie; ils auraient donc pu améliorer la biodisponibilité de l'acide nipécotique. En fait, il n'en est rien, cela est dû à des effets stériques et conformationnels, qui imposent de manière parfois dominante des conformations à carboxyle axial, topographiquement défavorables. De surcroît, ces substituants possèdent des effets électroniques inducteurs qui ne sont pas toujours en faveur d'une amélioration de la biodisponibilité. Leurs effets inducteurs vont se répercuter sur les constantes de dissociation et venir moduler les rapports *I/U* entre les populations des espèces zwitterioniques et des espèces non-ionisées. Ces rapports ont été mesurés sur certains composés par la méthode de Wegscheider [13, 27]. Comme le montrent les résultats, rassemblés dans le Tableau III, l'introduction des substituants alkyles et aryles a parfois aggravé le rapport *I/U* en augmentant les populations des espèces zwitterioniques impropres aux passages membranaires en l'absence de transporteur spécifique. Lorsque ce rapport est amélioré, il n'atteint cependant pas une valeur convenable à un bon passage dans le système nerveux central (quelques ‰ au moins).

Il ressort finalement de ce travail qu'une interaction efficace des dérivés de l'acide nipécotique avec la protéine transporteuse nécessite des molécules relativement planes avec la fonction carboxylique orientée dans le plan moyen du cycle pipéridine. De ce fait, l'introduction d'une insaturation en *a* du carboxyle est bien acceptée. Un substi-

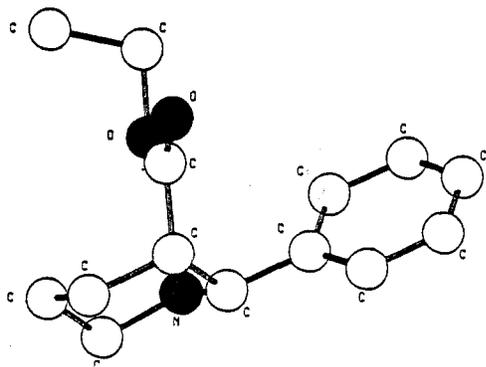


Fig. 2. Structure radiocristallographique du phényl-2 nipécotate d'éthyle.

Tableau III. Constantes d'équilibres acido—basiques et rapports I/U entre les espèces zwitterioniques (I) et les espèces non-ionisées (U).

Nom	N°	pK_1	pK_2	pK (ester)	$I/U \times 10^6$
Acide méthyl-2 nipécotique	6	3,07 (3,00)	10,75 (10,20)	9,46 (9,20)	2,45 (1,58)
Acide méthyl-4 nipécotique	7	3,43	10,10	9,14	0,51
Acide méthyl-6 nipécotique	9	3,22	10,57	8,96	0,56
Acide phényl-2 nipécotique	10	3,04	9,86	8,46	0,26
Acide phényl-3 nipécotique	22	2,69	10,46	9,06	2,34
Acide phényl-4 nipécotique	27	3,05	9,92	8,72	0,47
Acide phényl-5 nipécotique	31	3,50	10,40	9,80	2,00
Tétrahydro-1,2,3,4 iso-quinoléine carboxylique-4	12	3,20 (3,34)	9,50 (8,88)	7,98 (7,66)	0,06 (0,02)
Acide nipécotique	2	3,27 (3,29)	10,37 (10,07)	9,44 (9,21)	1,48 (0,83)

() Valeurs déterminées à 37°C.

tuant méthyle est toléré en position 6, mais les substituants aromatiques semblent très mal acceptés quelle que soit la position de leur greffage sur le cycle pipéridinique. Enfin si l'introduction d'un groupe alkyle ou aryle augmente la lipophilie, elle n'améliore pas suffisamment la bio-disponibilité des produits obtenus puisque, par des effets électroniques la population des espèces zwitterioniques reste trop importante pour que le passage membranaire passif soit possible pour nos dérivés de l'acide nipécotique.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Généralités

Les points de fusion ne sont pas corrigés. Les spectres infra-rouge ont été enregistrés sur un appareil Beckman Acculab 4; les longueurs d'onde sont données en cm^{-1} . Les spectres RMN du proton ont été obtenus sur des appareils Bruker (60 et 200 MHz); les déplacements chimiques sont donnés en δ ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Le sigle DH_x indique une double irradiation du signal de H_x , une notation du type $m \rightarrow q$ signifie qu'un multiplet est transformé en quadruplet à la suite d'une double irradiation. Une dénomination telle *td* représente un multiplet résolu par le jeu de double irradiations. Les micro-analyses ont été effectuées par le Service Central d'Analyses du CNRS de Strasbourg.

Chlorhydrate de l'acide méthyl-3 nipécotique 16

Benzoyl-1 carbéthoxy-3 pipéridine 14. Dans un ballon d'un litre équipé d'une agitation mécanique, d'une ampoule à brome, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, introduire 400 ml de dichlorométhane, 157 g (1,00 mol) de nipécotate d'éthyle, 112 g (1,10 mol) de triéthylamine. Refroidir à 10°C et introduire lentement 140 g (1,00 mol) de chlorure de benzoyle en maintenant la température. Agiter ensuite 2 h à température ambiante. Filtrer, évaporer le filtrat à sec. Reprendre dans 500 ml d'éther éthylique et traiter au noir animal. Filtrer, évaporer le solvant et distiller le produit à 150°C sous 0,1 mm Hg. On obtient 187 g (72%) d'une huile incolore.

Benzoyl-1 méthyl-3 carbéthoxy-3 pipéridine 15. Un montage comprenant un réacteur d'un litre, un agitateur, une ampoule à brome et un réfrigérant est séché et placé sous atmosphère d'argon. Introduire 350 ml de THF sec puis 33 g (0,33 mol) de diisopropylamine fraîchement distillée. Maintenir la température entre 0°C et 4°C pendant l'addition, goutte à goutte de 200 ml de solution de butyl-lithium à 15% dans de l'hexane (0,33 mol). Refroidir à -78°C et ajouter une solution de 86 g

(0,33 mol) de benzoyl-1 carbéthoxy-3 pipéridine **14** dans 75 ml de THF sec. Agiter encore 40 min puis introduire lentement 51,2 g (0,36 mol) d'iodure de méthyle, toujours à -78°C. Laisser ensuite revenir à température ambiante. Evaporer les solvants à l'évaporateur rotatif. Reprendre dans 500 ml d'eau et extraire à l'éther éthylique. Laver la phase étherée à l'eau jusqu'à la neutralité. Sécher sur MgSO_4 , filtrer, évaporer à sec et distiller le résidu sous 0,6 mm Hg à 164°C. On obtient 71,5 g (79%) d'huile utilisée telle quelle.

Acide benzoyl-1 méthyl-3 nipécotique. Dans un ballon de 250 ml mélanger 13,8 g (0,05 mol) de benzoyl-1 méthyl-3 carbéthoxy-3 pipéridine **15**, 5,0 g (0,13 mol) d'hydroxyde de sodium, 100 ml d'éthanol et 30 ml d'eau. Chauffer à 40°C pendant 1 h puis évaporer l'éthanol à l'évaporateur rotatif. Reprendre dans 100 ml d'eau et acidifier à pH 2 par HCl concentré. Extraire à l'éther éthylique. Filtrer le produit obtenu. Recrystalliser dans un mélange dichlorométhane—éther éthylique, après filtration à chaud sur noir animal, refroidir à 0°C. Filtrer et sécher les cristaux 6,4 g (52%), $F = 158^\circ\text{C}$.

Chlorhydrate de l'acide méthyl-3 nipécotique 16. Placer 18,3 g (0,073 mol) d'acide benzoyl-1 méthyl-3 nipécotique et 250 ml d'acide chlorhydrique 6 N dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant. Porter à ébullition pendant 6 h. Refroidir et filtrer l'acide benzoïque. Evaporer le filtrat à sec et reprendre par 50 ml d'éther éthylique. Cristalliser le précipité dans l'acétone avec quelques gouttes de méthanol. On obtient 8,6 g (65%) de poudre. $F = 187^\circ\text{C}$. Analyses calculées pour $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClNO}_2$: C = 46,80; H = 7,86; N = 7,80; Cl = 19,73. Trouvées: C = 46,94; H = 8,14; N = 7,54; Cl = 19,88. IR (KBr): 3300—2300, 1720. RMN (60 MHz, DMSO-d_6): 1,20 (s, 3H, CH_3); 1,2—2,0 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{—C—CH}_2$); 2,5—3,5 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C—N—CH}_2$); 8,0—10,0 (*large signal*, 3H échangeables par D_2O , NH_2 et OH).

Chlorhydrate de l'acide éthyl-3 nipécotique 17

Ce composé a été préparé selon le même mode opératoire que le chlorhydrate de l'acide méthyl-3 nipécotique **16** en remplaçant l'iodure de méthyle par une quantité équivalente d'iodure d'éthyle. On obtient des cristaux blancs fondant à 165°C. Analyses calculées pour $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$: C = 49,61; H = 8,37; N = 7,48. Trouvées: C = 49,48; H = 8,24; N = 7,48. IR (KBr): 3400—2500, 1710. RMN (60 MHz, DMSO-d_6): 0,8 (t, $J = 7,0$, 3H, $\text{CH}_3\text{—CH}_2$); 1,2—2,4 (m, 6H, $\text{H}_2\text{C—C—CH}_2$); 2,7—3,1 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C—N—CH}_2$).

Chlorhydrate de l'acide phényl-3 nipécotique 22

Faire barboter HCl gazeux dans une solution d'éther éthylique contenant 550 mg (0,024 mol) de phényl-3 nipécotate d'éthyle **21** [16]. Refroidir et filtrer le précipité. Recrystalliser dans un mélange isopropanol—acétate d'éthyle. On obtient 580 mg (91%) de chlorhydrate fondant à 140°C. Analyses calculées pour $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ClNO}_2$: C = 62,63; H = 7,42; N = 5,19. Trouvées: C = 62,37; H = 7,42; N = 5,08. RMN (200 MHz, D_2O): 1,23 (t, $J = 7,0$, 3H, $\text{H}_3\text{C—CH}_2$); 1,6—1,9 (m, 1H, H_{5a}); 2,0—2,2 (m, 1H, H_{5b}); 2,30 (*td*, $J = 13,0$, $J = 3,5$

1H, H_{4a}); 2,70 (*d large*, $J = 13,0$, 1H, DIH_{2e} *d large* $\rightarrow dt$, $J = 13,0$, $J = 3,5$, H_{4e}); 3,10 (*td*, $J = 12,0$, $J = 3,5$, 1H, H_{6a}); 3,30 (*d*, $J = 13,0$, 1H, H_{2a}); 3,43 (*d*, $J = 12,0$, $J = 3,0$, 1H, H_{6e}); 4,05 (*d large*, 1H, DIH_{4e} *d large* $\rightarrow d$, H_{2e}); 4,2–4,4 (*m*, 2H, H_3C-CH_2-O); 7,50 (*s*, 5H, C_6H_5).

Acide phényl-3 nipécotique

Chauffer à reflux pendant 24 h 550 mg (0,0024 mol) de phényl-3 nipécotatate d'éthyle 21 dans 10 ml d'eau. Eliminer l'eau par évaporation sous vide. Recrystalliser la poudre obtenue dans l'alcool à 95%. On obtient 400 mg (83% de poudre fondant à 292°C. Analyses calculées pour $C_{12}H_{15}NO_2 \cdot H_2O$: C = 64,57; H = 7,62; N = 6,27. Trouvées: C = 65,29; H = 7,89; N = 6,22. RMN (200 MHz, D_2O): 1,7–2,0 (*m*, 1H, H_{5a}); 2,1–2,3 (*m*, 1H, H_{5e}); 2,20 (*td*, $J = 13,0$, $J = 3,5$, 1H, H_{4a}); 2,45 (*d large*, $J = 13,0$, 1H, DIH_{6e} *d large* $\rightarrow dq$ élargi $J = 13,0$, $J = 13,0$, H_{4e}); 2,95 (*d*, $J = 13,0$, 1H, DIH_{2e} *d* $\rightarrow s$, H_{2a}); 3,00 (*td*, $J = 12,0$, $J = 3,0$, 1H, DIH_{5e} *td* $\rightarrow t$ $J = 12,0$, DIH_{6e} *td* $\rightarrow dd$, H_{6a}); 3,43 (*d large*, $J = 12,0$, 1H, DIH_{5e} *d large* $\rightarrow ddd$, $J = 12,0$, $J = 3,0$, $J = 1,0$, H_{6e}); 3,80 (*d large*, $J = 13,0$, 1H, DIH_{2a} *d large* $\rightarrow s$ *large*, DIH_{4e} *d large* $\rightarrow d$).

Chlorhydrate de l'acide phényl-3 nipécotique 22

Faire barboter HCl gaz dans une solution méthanolique d'acide phényl-3 nipécotique. Evaporer à sec et recrystalliser dans un mélange méthanol-éther éthylique. F = 141°C. Analyses calculées pour $C_{14}H_{20}NO_2Cl$: C = 62,34; H = 7,42; N = 5,19. Trouvées: C = 62,37; H = 7,42; N = 5,08.

Chlorhydrate de l'acide phényl-4 nipécotique 27

Phényl-4 nipécotatate d'éthyle 26. A une solution de 1,95 g (0,0132 mol) de tétrafluoroborate de triméthylxonium dans 60 ml de chlorure de méthylène ajouter 5,0 g (0,02 mol) de phényl-4 carbéthoxy-5 pipéridone-2 25 [18]. Agiter 48 h puis évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans 30 ml d'éthanol absolu. Refroidir à $-10^\circ C$ et ajouter 1,51 g (0,04 mol) de $NaBH_4$ de façon à ce que la température ne dépasse pas $+10^\circ C$. Laisser ensuite revenir à température ambiante et agiter 24 h. Ajouter 50 ml d'eau et évaporer l'éthanol. Acidifier le résidu par HCl 1,5 N jusqu'à pH = 1 puis neutraliser par $NaHCO_3$. Extraire au chloroforme. Sécher la phase chloroformique sur sulfate de magnésium, filtrer, évaporer à sec. Distiller le résidu sous vide à $130^\circ C$ (0,1 mm Hg). On obtient 2,56 g (55%) d'un mélange de diastéréoisomères. IR ($CHCl_3$): 3340, 1725. RMN (60 MHz, $CDCl_3$): 0,90 (*t*, $J = 7,0$, 3H, H_3C-CH_2-O); 1,7–2,0 (*m*, 1H); 1,90 (*s*, 1H, échangeable par D_2O , NH); 2,4–3,5 (*m*, 8H); 3,80 (*q*, $J = 7,0$, 2H, H_3C-CH_2-O); 7,3–7,4 (*m*, 5H, C_6H_5).

Oxalate acide du phényl-4 nipécotatate d'éthyle. Traiter une solution de 1,0 g (0,0045 mol) de phényl-4 nipécotatate d'éthyle dans 2 ml d'isopropanol par une solution de 390 mg (0,0043 mol) d'acide oxalique anhydre dans 2 ml d'isopropanol. Laisser reposer 24 h et filtrer. Recrystalliser dans l'isopropanol. On obtient 500 mg (36%) d'oxalate acide. F = 132–135°C. Analyses calculées pour $C_{16}H_{21}NO_6$: C = 59,16; H = 6,65; N = 4,70. Trouvées: C = 59,37; H = 6,43; N = 4,52.

Chlorhydrate de l'acide phényl-4 nipécotique 27. Chauffer à reflux pendant 24 h 1,2 g (0,005 mol) d'ester 26 dans une solution de 14 ml d'acide acétique glacial et 7 ml d'HCl 6 N. Evaporer les solvants. Recrystalliser le résidu dans l'isopropanol. On obtient 650 mg (50%) de chlorhydrate de l'acide phényl-4 nipécotique. F = 220–225°C. Analyses calculées pour $C_{12}H_{16}ClNO_2$: C = 59,62; H = 6,67; N = 5,80. Trouvées: C = 58,88; H = 6,75; N = 5,98.

Chlorhydrate de l'acide phényl-5 nipécotique 31

Phényl-5 nicotinate d'éthyle 29. Maintenir sous agitation à $0^\circ C$ une solution de 7,0 g (0,04 mol) de phényl-5 nicotinonitrile 28 [19], 120 ml d'éthanol absolu et 120 ml d'éther éthylique anhydre. Faire barboter HCl gazeux sec pendant 2 h. Maintenir sous atmosphère d'argon pendant une nuit. Ajouter 200 ml d'éther éthylique et 400 ml d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium. Agiter encore pendant 7 h à température ambiante. Extraire à l'éther éthylique. Sécher la phase organique sur $MgSO_4$; filtrer et évaporer les solvants. Distiller le brut réactionnel sous 0,1 mm Hg. Recueillir la fraction distillant à $130^\circ C$. On obtient 6,2 g (70%) de phényl-5 nicotinate d'éthyle qui cristallise au refroidissement. F = $68^\circ C$. Analyses calculées pour $C_{14}H_{19}NO_2$: C = 73,99; H = 5,76; N = 6,16. Trouvées: C = 74,03

H = 5,70; N = 6,28. IR ($CHCl_3$): 1720; RMN (60 MHz, $CDCl_3$): 7,4–7,6 (*m*, 5H, C_6H_5); 8,50 (*t*, $J = 2,0$, 1H, H_4); 9,00 (*d*, $J = 2,0$, 1H, H_2); 9,20 (*d*, $J = 2,0$, 1H, H_6).

Phényl-5 nipécotatate d'éthyle 30. Dissoudre 4,5 g (0,02 mol) de phényl-5 nicotinate d'éthyle 29 dans 60 ml d'éthanol anhydre contenant 750 mg d'HCl dissous. Hydrogéner la solution à l'appareil de Parr sous une pression de 5 atm en présence de 350 mg de PtO_2 . Après 5 h, ajouter 150 mg de catalyseur supplémentaires et poursuivre l'hydrogénation pendant 4 h. Filtrer, évaporer le filtrat et reprendre dans l'eau. Alcaliniser par une solution 2 N de soude et extraire à l'éther éthylique. Sécher la phase organique sur $MgSO_4$, filtrer et évaporer le solvant. Distiller le résidu. Recueillir 2,7 g (58%) de phényl-5 nipécotatate d'éthyle sous forme d'un mélange de diastéréoisomères. IR ($CHCl_3$): 3340, 1725. RMN (60 MHz, $CDCl_3$): 0,9–3,5 (*m*, 11H); 1,60 (*s*, 1H, échangeable par D_2O , NH); 3,8–4,5 (*m*, 2H); 7,50 (*s*, 5H, C_6H_5).

Oxalate acide du phényl-5 nipécotatate d'éthyle. Préparé comme l'oxalate acide du phényl-4 nipécotatate d'éthyle à partir de 1,00 g (0,0045 mol) de phényl-5 nipécotatate d'éthyle et 390 mg (0,0045 mol) d'acide oxalique. On obtient 560 mg (39%) de cristaux. F = 125–130°C. Analyses calculées pour $C_{16}H_{21}NO_6$: C = 59,13; H = 6,55; N = 4,70. Trouvées: C = 59,39; H = 6,56; N = 4,44.

Chlorhydrate de l'acide phényl-5 nipécotique 31. Préparé comme le chlorhydrate de l'acide phényl-4 nipécotique à partir de 1,0 g de phényl-5 nipécotatate d'éthyle 30, 14 ml d'acide acétique glacial et 7 ml d'HCl 6 N. On obtient 800 mg (77%) de produit sous forme d'une poudre blanche. F = 215–220°C. Analyses calculées pour $C_{12}H_{15}NO_2 \cdot HCl$: C = 59,62; H = 6,67; N = 5,80. Trouvées: C = 59,51; H = 6,70; N = 5,90.

Acide phényl-6 nipécotique 35

Cyano-2 benzoyl-4 propionate d'éthyle 33. Ajouter 8,4 g (0,15 mol) de KOH dans 150 ml d'éthanol anhydre. Après homogénéisation introduire 6,7 g (0,6 mol) de cyano-acétate d'éthyle puis, après 5 min, additionner 16,8 g (0,1 mol) de β -chloropropiophénone. Après 7 min, la chloropropiophénone a totalement disparu. Evaporer le solvant. Distiller l'excès de cyano-acétate d'éthyle sous vide de la trompe à eau. Chromatographier le résidu sur colonne de silice montée et éluée au moyen d'un mélange hexane-acétate d'éthyle (9/1). Récupérer 15,7 g (64%) d'huile. IR ($CHCl_3$): 2980, 1740, 1690, 1600. RMN (60 MHz, $CDCl_3$): 1,30 (*t*, $J = 7,0$, 3H, H_3CCH_2O); 2,0–2,6 (*m*, 2H, CH_2-CH_2-CH); 3,0–3,5 (*m*, 2H, $O=C-CH_2$); 3,80 (*dq*, $J = 7,0$, $J = 6,5$, 1H, $NC-CH-CO_2C_2H_5$); 4,28 (*q*, $J = 7,0$, 2H, OCH_2-CH_3); 7,2–8,2 (*m*, 5H, C_6H_5).

Phényl-6 nipécotatate d'éthyle 34. Hydrogéner une suspension de 4,9 g (0,02 mol) de cyanoester 33 dans 50 ml d'éthanol absolu sous 80 atm à $100^\circ C$ en présence de 1,5 g de nickel de Raney. Après 6 h, filtrer sur célite et évaporer le filtrat. Chromatographier le résidu sur colonne de silice, éluer avec un mélange cyclohexane-acétate d'éthyle-diéthylamine (50/50/0,5). On obtient un produit encore souillé d'une impureté. Reprendre dans l'éther éthylique. Faire barboter HCl gaz anhydre. Filtrer le chlorhydrate formé. Recrystalliser dans l'isopropanol. Reprendre les cristaux dans l'eau et alcaliniser avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Extraire au chloroforme. Sécher la solution chloroformique, filtrer et évaporer les solvants pour obtenir une huile correspondant aux diastéréoisomères de l'ester attendu. IR ($CHCl_3$): 1735. RMN (200 MHz, $CDCl_3$): 1,24 (*t*, $J = 7,0$, 2H, *trans* H_3C-CH_2-O); 1,26 (*t*, $J = 7,0$, 1H, *cis* H_3C-CH_2-O); 1,3–2,0 (*m*, 3H, H_{4a} , H_{5e} , H_{5a}); 2,0–2,3 (*m*, 1H, H_{4e}); 2,3–2,8 (*m*, 1H, H_3); 2,87 (*t*, $J = 11,0$, 0,67H, *trans* H_{2a}); 3,31 (*ddd*, $J = 12,0$, $J = 4,0$, $J = 2,0$, 0,33H, *cis* H_{2e}); 3,42 (*ddd*, $J = 12,0$, $J = 4,0$, $J = 2,0$, 0,67H, *trans* H_{2e}); 3,57 (*dd*, $J = 11,0$, $J = 3,0$, 1H, H_6); 4,09 (*q*, $J = 7,0$, 0,67H, *cis* $O-CH_2-CH_3$); 4,13 (*q*, $J = 7,0$, 1,33H, *trans* $O-CH_2-CH_3$).

Acide phényl-6 nipécotique 35. Maintenir au reflux pendant 24 h 2,0 g (0,01 mol) d'ester 34 dans 50 ml d'eau. Laver l'eau au chloroforme puis évaporer à sec. On obtient une huile épaisse. Analyses calculées pour $C_{12}H_{15}NO_2$: C = 70,22; H = 7,37; N = 6,82. Trouvées: C = 70,00; H = 7,63; N = 6,63.

Chlorhydrate de méthyl-1 aza-2 oxaspiro-8[5,4]décane-7 11

Produit préparé selon Albertson [12]. F = 265–268°C (lit. 265–266°C).

RMN (200 MHz, D₂O): 1,40 (*d*, *J* = 7,0, 3H, H₃C—CH); 1,85 (*td*, *J* = 13,0, *J* = 4,0, 1H, H_{4a}); 1,9—2,1 (*m*, 2H, H_{5a}, H_{5e}); 2,1—2,3 (*m*, 1H, HCH—CH₂—O); 3,35 (*d large*, *J* = 13,0, 1H, DIH_{2e} *d large* → *t élargi* *J* = 13,0, *J* = 3,0, H_{4e}); 2,60 (*dt*, *J* = 13,0, *J* = 9,5, 1H, partie B d'un ABXX', HCH—CH₂—O); 3,12 (*td*, *J* = 13,0, *J* = 4,0, 1H, H_{6a}); 3,51 (*dqu*, *J* = 13,0, *J* = 2,0, 1H, H_{6e}); 3,57 (*q élargi*, *J* = 7,0, 1H, DIH_{4e} *q élargi* → *q*, H_{2e}); 4,53 (*d*, *J* = 9,5, 1H, O—HCH—CH₂); 4,55 (*dd*, *J* = 9,5, *J* = 1,5, 1H, O—HCH—CH₂).

Chlorhydrate de la méthyl-6 guvacine 44

Benzylamino-3 butyrate d'éthyle 37. Chauffer à reflux pendant 20 h un mélange contenant 53,5 g (0,5 mol) de benzylamine, 150 ml d'éthanol absolu, 68,5 g (0,6 mol) de crotonate d'éthyle. Evaporer ensuite l'éthanol et distiller sous vide de la pompe à palettes. La fraction huileuse qui distille à 110°C sous 0,5 mm Hg représente 88 g (80%). Analyses calculées pour C₁₃H₁₉NO₂: C = 70,48; H = 8,59; N = 6,33. Trouvées: C = 70,23; H = 8,65; N = 6,36. IR (CHCl₃) 1720. RMN (60 MHz, CDCl₃): 1,15 (*d*, *J* = 6,8, 3H, H₃C—CH); 1,24 (*t*, *J* = 7,5, 3H, O—CH₂—CH₃); 1,60 (*s élargi*, 1H, NH); 2,40 (*dd*, *J* = 6,8, *J* = 1,5, 2H, O=C—CH₂—CH); 2,8—3,4 (*m*, 1H, CH₂—CH—CH₃); 3,80 (*s*, 2H, NH—CH₂—C₆H₅); 4,12 (*q*, *J* = 7,5, 2H, O—CH₂—CH₃); 7,30 (*s*, 5H, C₆H₅).

N-(Carbéthoxy-2 éthyl)-benzylamino-3 butyrate d'éthyle 38. Chauffer à reflux pendant 48 h 71,5 g (0,32 mol) de benzylamino-3 butyrate d'éthyle 37 dans 75 ml d'éthanol et 42,0 g (0,42 mol) d'acrylate d'éthyle. Evaporer l'éthanol et reprendre le brut réactionnel dans l'eau. Acidifier jusqu'à pH 3 par HCl 6 N. Extraire à l'éther éthylique, sécher la phase organique et évaporer les solvants. Purifier le liquide brut sur colonne de silice, éluer au mélange benzène—acétate d'éthyle (3/1). On obtient 35 g (33%) d'huile. Analyses calculées pour C₁₈H₂₇NO₄: C = 67,30; H = 8,47; N = 4,36. Trouvées: C = 68,10; H = 8,62; N = 4,37. IR (CHCl₃): 1720. RMN (60 MHz, CDCl₃): 1,0—1,4 (*m*, 9H, où l'on reconnaît à 1,09 (*d*, *J* = 6,8, 3H, H₃C—CH); à 1,21 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); à 1,22 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); 2,1—3,0 (*m*, 6H, CH₂—CH₂—N—CH—CH₂); 3,1—3,7 (*m*, 3H, où l'on reconnaît à 3,56 (*d élargi*, *J* = 3,3, 2H, N—CH₂—C₆H₅) + N—CH—(CH₃)CH₂); 3,8—4,3 (*m*, 4H, où l'on reconnaît à 4,10 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); et à 4,12 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); 7,28 (*s*, 5H, C₆H₅).

N-Carbéthoxy-N-(carbéthoxy-2 éthyl)-amino-3 butyrate d'éthyle 39. Hydrogéner sous 5 atm pendant 2 h dans un appareil de Parr, une solution de 20,0 g (0,062 mol) du diester N-benzylé 38, 15 ml d'HCl 4 N, 50 ml d'éthanol et 1,4 g de Pd/C à 10%. Filtrer ensuite sur terre d'infusoires et évaporer les solvants. Reprendre le résidu dans 25 ml d'eau, refroidir à 0°C et ajouter sous une vive agitation une solution de carbonate de potassium à 50% précédemment refroidie à 0°C. Ajouter au mélange précédent 8,0 g (0,074 mol) de chloroformiate d'éthyle et maintenir l'agitation pendant 30 min à 0°C puis 1 h à température ambiante. Extraire à l'éther éthylique, sécher la phase organique et évaporer le solvant. On obtient 17 g (90%) d'huile incolore. Analyses calculées pour C₁₄H₂₂NO₄: C = 55,61; H = 8,33; N = 4,63. Trouvées: C = 55,76; H = 8,54; N = 4,45. IR (CHCl₃): 1680, 1725. RMN (60 MHz, CDCl₃): 0,8—1,4 (*m*, 12 H, où l'on reconnaît à 1,24 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); à 1,26 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); à 1,26 (*d*, *J* = 6,8, 3H, H₃C—CH); 2,5—2,8 (*m*, 4H, O=C—CH₂, O=C—CH₃); 3,4—3,9 (*m*, 2H, N—CH₂—CH₂—C=O); 3,4—3,9 (*m*, 2H, N—CH₂—CH₂—C=O); 4,0—4,3 (*m*, 7H, où l'on reconnaît à 4,14 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); à 4,16 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); et (*m*, 1H, N—CH(CH₃)CH₂)).

Dicarbéthoxy-1,3 hydroxy-4 méthyl-6 tétrahydro-1,2,5,6 pyridine 40. Agiter pendant 20 h à température ambiante, 10,0 g (0,033 mol) de diester 39, 35 ml de xylène 0,80 g (0,035 mol) de sodium divisé et 0,16 ml d'éthanol absolu. Ajouter ensuite 10 ml d'HCl 4 N et séparer la phase organique. Sécher sur MgSO₄ et évaporer. Purifier sur colonne de silice en éluant au mélange benzène—acétate d'éthyle (85/15). On obtient 7,6 g (90%) d'huile incolore. Analyses calculées pour C₁₂H₁₉NO₅: C = 55,80; H = 7,41; N = 5,42. Trouvées: C = 55,80; H = 7,62; N = 5,21. IR (CHCl₃): 1620, 1690, 1720. RMN (60 MHz, CDCl₃): 1,14 (*d*, *J* = 6,8, 3H, H₃C—CH); 1,25 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); 1,26 (*t*, *J* = 6,8, 3H, O—CH₂—CH₃); 1,5—3,8 (*m*, 3H); 3,9—5,0 (*m*, 5H, où l'on reconnaît à 4,12 (*q*, 2H, O—CH₂—CH₃); à 4,20 (*q*, 2H, O—CH₂—CH₃) + *m*, 1H, N—CH(CH₃)CH₂)), 12,00 et 12,27 (2s, 1H, échangeables par D₂O, OH).

Dicarbéthoxy-1,5 hydroxy-4 méthyl-2 pipéridine 41. Une suspension de 7,0 g (0,044 mol) de cétoester 40 dans 50 ml d'éthanol est hydrogénée pendant 20 h sous 80 atm en présence de 1,3 g de nickel de Raney. Après filtration, le solvant est évaporé. On obtient 6,5 g (93%) de produit. Analyses calculées pour C₁₂H₂₂O₅: C = 55,58; H = 8,16; N = 5,40. Trouvées: C = 55,28; H = 8,79; N = 5,26. IR (CHCl₃): 1690, 1720.

Dicarbéthoxy-1,3 méthyl-6 tétrahydro-1,2,5,6 pyridine 43. Chauffer à reflux pendant 20 h 4,0 g (0,025 mol) du pipéridinol précédent dans 25 ml d'anhydride acétique. Evaporer à sec, reprendre le résidu dans 10 ml d'eau et alcaliniser par une solution saturée de NaHCO₃. Extraire l'acétate à l'éther éthylique, sécher et évaporer à sec. Reprendre l'acétate dans 25 ml de THF fraîchement distillé, ajouter 1,5 ml de diaza-1,5 bicyclo[4,3,0]nonène-5. Laisser agir à température ambiante pendant 2 h et évaporer le THF. Reprendre le résidu dans 10 ml d'eau et acidifier par HCl 3 N. Extraire à l'éther éthylique. Purifier cet extrait sur colonne de silice, éluer au mélange cyclohexane—acétate d'éthyle (1/1). On obtient 3,5 g (94%) de produit huileux. Analyses calculées pour C₁₂H₁₉NO₄: C = 59,75; H = 7,88; N = 5,80. Trouvées: C = 59,83; H = 7,10; N = 5,64. IR (CHCl₃): 1690, 1700. RMN (60 MHz, CDCl₃): 0,9—1,5 (*m*, 9H, H₃C—CH₂ × 2 O—CH₂—CH₃); 2,0—3,0 (*m*, 2H, CH—CH₂—CH=); 3,4—5,0 (*m*, 7H, où l'on reconnaît à 4,03 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); à 4,07 (*q*, *J* = 6,8, 2H, O—CH₂—CH₃); 6,8—7,2 (*m*, 1H, CH₂—CH=C).

Chlorhydrate de l'acide (R, S) méthyl-6 tétrahydro-1,2,5,6 pyridine carboxylique-3 ou chlorhydrate de la méthyl-6 guvacine 44. Chauffer à reflux pendant 12 h 3,0 g (0,012 mol) de guvacine protégée 43 dans 25 ml d'HCl 6 N. Evaporer l'acide chlorhydrique et recristalliser le résidu dans un mélange isopropanol—éther éthylique (80/20). On obtient 1,1 g (50%) de poudre F = 282°C. Analyses calculées pour C₇H₁₂ClNO₂·1/4H₂O: C = 46,15; H = 6,91; N = 7,69. Trouvées: C = 46,11; H = 6,92; N = 7,63. IR (KBr): 3500—2300, 1715, 1650. RMN (60 MHz, D₂O): 1,40 (*d*, *J* = 6,8, 3H, H₃C—CH); 2,2—2,7 (*m*, 2H, CH—CH₂—CH=C); 3,0—3,7 (*m*, 1H, N—CH(CH₃)—CH₂); 4,00 (*s élargi*, 2H, N—CH₂—C).

Etude physicochimique, mesure des pK_a

Les mesures de pK ont été pratiquées à 25°C (et à 37°C dans 4 cas), les produits étant dissous dans du sérum physiologique. Des titrages ont été réalisés de façon automatique et le pH a été mesuré à l'aide de la pile: électrode de verre|solution|sérum physiologique|AgCl|Ag. La standardisation a été opérée en posant qu'une solution 9‰ en NaCl et 10⁻² M en HCl possédait un pH de 2,000 à toute température. Le produit ionique de l'eau vaut 13,77 à 25°C et 13,38 à 37°C. Le traitement des informations a été effectué à l'aide du programme SCOGS sur ordinateur UNIVAC. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau III.

Etude Biochimique et Pharmacologique

Etude sur les récepteurs GABA-A

Préparation des membranes avant congélation. Un cerveau de rat mâle Wistar (Charles Rivers) a été prélevé rapidement après décapitation de l'animal, broyé dans 20 ml de saccharose 0,32 M glacé, puis centrifugé 10 min à 1000 × g à 4°C. Le surnageant a été centrifugé à 20 000 × g pendant 20 min à 4°C. Le culot résultant de cette dernière centrifugation a été additionné de 20 ml d'eau distillée et homogénéisé 30 s au Polytron PT 10. Cet homogénat a été centrifugé 20 min à 8000 × g à 4°C. Le surnageant et la partie supérieure du culot ont été récoltés et centrifugés à 48 000 × g pendant 20 min. Le culot a été ensuite conservé au congélateur à -30°C pendant au minimum 18 h.

Expériences de liaison. Avant chaque expérience, le culot a été remis en suspension dans 30 ml de tampon Tris/citrate 0,05 M, pH 7,1, contenant 0,05% (v/v) de Triton X-100. Cet homogénat a été mis à incuber 30 min à 37°C, puis il a été centrifugé 10 min à 48 000 × g à 4°C. Le culot a été alors repris par 4 ml de tampon Tris/citrate 0,05 M, pH 7,1. La suspension obtenue a constitué la préparation de membranes synaptiques. L'expérience de déplacement de GABA tritié a été effectuée dans des tubes de 5 ml contenant 1,4 ml de tampon

Tris/citrate 0,05 M, pH 7,1, 0,2 ml de produit étudié ou de substance de référence à la concentration désirée, 0,2 ml de [³H]GABA (concentration finale = $3,6 \times 10^{-9}$ M) et 0,2 ml de suspension de membranes synaptiques. A l'issue de l'incubation de 5 min à 4°C, les échantillons ont été filtrés sur filtre de fibre de verre Whatman GF/C de 2,5 cm de diamètre. Le tube et le filtre ont été rincés par 10 ml d'eau distillée glacée. Après séchage du filtre, la radioactivité a été mesurée par scintillation liquide.

Etude sur le transport du GABA dans les synaptosomes. Un cerveau de rat mâle Wistar (Charles Rivers) a été rapidement prélevé après décapitation de l'animal, le striatum a été disséqué, pesé, placé dans du saccharose 0,32 M à 4°C (80 µl de saccharose pour 1 mg de tissus) et broyé au Potter. L'homogénat a été centrifugé 15 min à $1000 \times g$, le surnageant a été centrifugé 15 min à $20\,000 \times g$. Le culot a été repris par le même volume de saccharose 0,32 M qu'initialement. Cette suspension a constitué la préparation de synaptosomes. L'incubation a été réalisée pendant 2 min à 37°C dans des tubes de 10 ml contenant 750 µl de tampon Krebs—Ringer 0,1 M contenant du NaCl 0,15 M, 50 µl de suspension de synaptosomes, 100 µl de solution à tester à la concentration désirée et 100 µl de [³H]GABA (concentration finale $1,1 \times 10^{-6}$ M).

L'arrêt de l'expérience a été effectué par l'addition de 5 ml de tampon Krebs—Ringer glacé ne contenant pas de NaCl. Les tubes ont alors été centrifugés 15 min à $20\,000 \times g$ à 4°C. Après lavage des culots, ceux-ci ont été dissous par 1 ml de protosol pendant 45 min à 55°C. La radioactivité a été mesurée par scintillation liquide. Dans chaque expérience, le niveau de base de radioactivité a été évalué en l'absence de NaCl. Les résultats figurent dans le Tableau I.

Etude pharmacologique. Les expériences ont été conduites selon les protocoles décrits dans les références [23—25].

Références

- Iversen L. L., Bird E., Spokes E., Nicholson S. H. & Suckling C. S. (1979) dans: *GABA-Neurotransmitters* (Krogsgaard-Larsen P., Scheel-Krüger J. & Kofod H., eds.), Munksgaard, Copenhagen, p. 179
- Nitsch C. & Okada Y. (1976) *Brain Res.* 105, 173
- Krogsgaard-Larsen P., Scheel-Krüger J. & Kofod H. (1979) dans: *GABA-Neurotransmitters* Munksgaard, Copenhagen, pp. 905
- Davidson N. (1976) dans: *Neurotransmitter Amino-Acids* Academic Press, London, chapitre 4
- Johnston G. A. R. (1978) *Proc. Austr. Physiol. Pharmacol. Soc.* 9, 94
- Bloom F. E. & Iversen L. L. (1971) *Nature* 229, 628
- Martin D. L. (1976) dans: *GABA in Nervous System Function* (Roberts E., Chase T. R. & Towers D. B., eds.), Raven Press, New York, p. 347
- Levi G., Banay-Schwarz M. & Raiteri M. (1978) dans: *Amino Acids as Neurotransmitters* (Fonnum F., ed.), Plenum Press, New York, p. 327
- Johnston G. A. R., Allan R. D., Kennedy S. M. E. & Twitchin B. (1979) dans: *GABA Neurotransmitters* (Krogsgaard-Larsen P., Scheel-Krüger J. & Kofod H., eds.), Munksgaard, Copenhagen, p. 149
- Yunger L. M., Fowler D. J., Zarevics P. & Setler P. E. (1984) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 228, 109
- Lapuyade G., Schlewier G. & Wermuth C. G. (1986) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 663
- Albertson N. F. (1950) *J. Am. Chem. Soc.* 72, 2594
- Edsall J. T. & Wytman J. (1958) dans: *Biophysical Chemistry* Academic Press, New York, vol. 1, p. 485
- Shiotani S. (1967) *Chem. Pharm. Bull.* 15, 88
- Avison A. W. D. & Morrison A. L. (1950) *J. Chem. Soc.* 1471
- Jacoby R. L., Nieforth K. A. & Willette R. E. (1974) *J. Med. Chem.* 17, 453
- Ingold-Usherwood E. H. (1925) *J. Chem. Soc.* 127, 469
- Weller D. D., Gless R. D. & Rapoport H. (1977) *J. Org. Chem.* 42, 453
- Borch R. F. (1968) *Tetrahedron Lett.* 61
- Julia M., Pinkas H. & Igolen J. (1966) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2387
- Krogsgaard-Larsen P., Thyssen K. & Schaumburg K. (1978) *Acta Chem. Scand.* B32, 327
- Muller-Uri C., Singer E. A. & Fleischhacker W. (1986) *J. Med. Chem.* 29, 125
- Brehm L., Krogsgaard-Larsen P., Johnston G. A. R. & Schaumburg K. (1976) *Acta Chem. Scand.* B30, 542
- Simon P., Chermat R., Doare L., Bourin M. & Farinotti R. (1982) *J. Pharmacol.* 13, 241
- Chambon J. P., Molimard J. C., Calassi R., Maruani J., Rodier D., Sigault G., Leyris R., Roncucci R. & Bizière K. (1984) *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 34, 1017
- Chambon J. P., Brochard J., Hallot A., Heaulme M., Brodin R., Roncucci R. & Bizière K. (1985) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233, 836
- Schlewier G., Wermuth C. G. & Chambon J. P. (1984) *Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther.* 19, 181