

Synthèse et activité sur le système nerveux central de nouvelles spirohydantoïnes

Pascal COUDERT¹, Catherine RUBAT², Pierre BASTIDE², Jacques COUQUELET¹ et Françoise SUDRE²

¹Laboratoire de Chimie Thérapeutique, et

²Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, 28, pl. Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex, France

(Reçu le 28 mars 1988, accepté le 14 octobre 1988)

Résumé — La préparation d'une nouvelle série de spirohydantoïnes substituées sur l'azote en 3 a été réalisée à partir d'un composé original, la (phényl-2-éthyl)-8-triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4. La plupart des dérivés obtenus ont présenté des effets neurosédatifs, anti-convulsivants, myorelaxants et anxiolytiques, cette dernière propriété étant surtout marquée pour deux composés. L'ensemble des résultats suggère pour ces dérivés un profil d'activité comparable à celui du diazepam.

Summary — **Synthesis and central nervous system activity of new spirohydantoins.** A new series of spirohydantoins substituted on the nitrogen atom in the 3-position has been prepared from an original compound, 8-(2-phenylethyl)-1,3,8-triaza[4.5]spiro-2,4-decanedione. Most derivatives exhibited sedative, anti-convulsant, muscle relaxant and anxiolytic activities. This last property is particularly marked for two compounds. These results suggest that the described spirohydantoins have an activity profile similar to that of diazepam.

spirohydantoins / sedative / anti-convulsant / muscle relaxant / anxiolytic

Introduction

L'activité des spirohydantoïnes semble se répartir dans deux directions bien différentes. La première est représentée par le système nerveux central où les dérivés de cyclohexane-spiro-5 hydantoïnes ont manifesté des activités analgésiques [1] et anti-épileptique avec la tétrantoin [2]. La seconde concerne le domaine de l'enzymologie avec des composés inhibiteurs de l'aldose réductase [3, 4].

Dans un précédent travail, nous avons remarqué que la (phényl-2 éthyl)-8 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4 possédait des propriétés sédatives [5]. Nous avons repris l'étude de ce type de structure, sur lequel nous avons fait varier la nature du substituant fixé sur l'azote en 3 du cycle hydantoïne. Nous avons voulu ainsi réaliser une pharmacomodulation de ces dérivés. Nous rapportons ici leur préparation et l'étude de leur activité sur le système nerveux central comparée à celle du diazepam utilisé comme substance de référence.

Chimie

Les spirohydantoïnes *N*-substituées **2a–f** sont obtenues en une étape au départ de la (phényl-2 éthyl)-8-triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4 **1**, elle-même synthétisée en

utilisant la réaction de Bucherer–Bergs [6]. Le schéma réactionnel est le suivant:

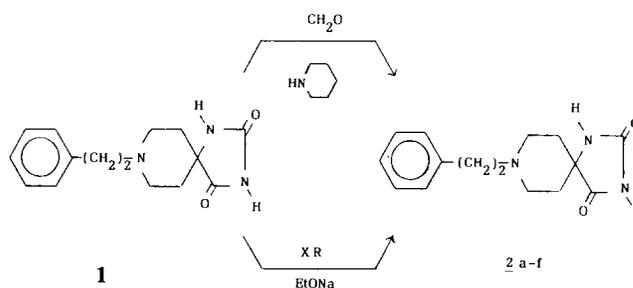


Schéma 1.

Nous avons utilisé deux types de réactions: d'une part la réaction de Mannich pour le dérivé **2d**, d'autre part le chauffage avec un dérivé halogéné approprié en présence d'éthylate de sodium pour les autres dérivés.

Tous les composés obtenus ont été recristallisés à l'exception du dérivé **2d** qui est instable à chaud comme la plupart des bases de Mannich. Ils présentent un point de fusion net (Tableau I). Leur structure a été établie par spectrométrie infra-rouge et de RMN ¹H.

Tableau I. Composés préparés.

N°	R	Méthode	Rdt	F°C	Formule (PM)
2a	<chem>CH2-C6H5</chem>	A	97	130	$C_{22}H_{25}N_3O_2$ (363)
2b	<chem>(CH2)2-C6H5</chem>	A	44	175	$C_{23}H_{27}N_3O_2$ (377)
2c	<chem>(CH2)3-C6H5</chem>	A	41	160	$C_{24}H_{29}N_3O_2$ (391)
2d	<chem>CH2-N</chem> 	B	81	163	$C_{21}H_{30}N_4O_2$ (370)
2e	<chem>(CH2)2-N</chem> 	C	70	183	$C_{22}H_{32}N_4O_2$ (384)
2f	<chem>(CH2)3-N</chem> 	C	63	170	$C_{23}H_{34}N_4O_2$ (398)

Tous les spectres infra-rouges présentent une bande d'absorption aux environs de 3240 cm^{-1} correspondant à la vibration du groupe NH en position 1 du cycle hydantoïne. Par ailleurs, on note la présence de deux bandes entre 1700 et 1780 cm^{-1} dues à la vibration des deux carbonyles du cycle hydantoïne.

En RMN ^1H , on observe pour l'ensemble des composés les signaux correspondant à la fraction phényléthylpipéridine. De plus, tous les spectres présentent au voisinage de $7,6\text{ ppm}$ un signal étalé correspondant au proton porté par l'azote en 1 du cycle hydantoïne. Par rapport à la molécule de départ, on constate la disparition à $10,7\text{ ppm}$ du signal correspondant au proton porté par l'azote en 3. Les signaux des substituants phénylalkyles et pipéridinoalkyles fixés sur l'azote de l'hydantoïne présentent des déplacements chimiques en accord avec les structures proposées.

Tableau II. Activités neurosédative, anti-convulsivante et myorelaxante, et toxicité approchée.

Composés	Doses (mg/kg) <i>per os</i>	Motilité spontanée % de diminution	Augmentation du temps de sommeil (%)	Electrochoc % de protection	Inhibition de l'activité motrice «rota-rod» (%)	Toxicité approchée DL_{50} (mg/kg)
1	12,5	50±2	179±17	—	—	700
	25	76±2	278±34	0	45±8	
	50	97±1	296±40	20	90±5	
	100	—	—	20	99±1	
2a	12,5	7±1*	103±20	—	—	>800
	25	28±4	165±10	0	2±1***	
	50	53±3	205±12	20	5±4***	
	100	—	—	80	61±11	
2b	12,5	22±5	90±21	—	—	>800
	25	82±3	220±7	0	20±7**	
	50	91±2	225±15	20	39±9	
	100	—	—	20	64±11	
2c	12,5	3±1**	116±18	—	—	>800
	25	15±4	136±11	0	1±1***	
	50	68±3	311±14	20	6±5***	
	100	—	—	60	8±6**	
2d	12,5	4±1*	145±20	—	—	400
	25	41±5	305±13	0	16±8**	
	50	78±5	347±9	20	20±6**	
	100	—	—	60	25±12**	
2e	12,5	27±6	34±20*	—	—	800
	25	35±4	209±13	0	21±9**	
	50	61±5	219±10	20	27±11*	
	100	—	—	60	30±15*	
2f	12,5	38±4	30±14	—	—	400
	25	45±5	269±12	0	14±7*	
	50	47±2	270±15	20	26±9	
	100	—	—	40	53±12	
Diazepam	1	6±2*	153±15	20	47±10	—
	3	45±3	1100±88	80	92±3	
	5	66±8	—	100	98±3	

La significativité p a toujours été inférieure à 0,001 sauf * $0,001 < p < 0,005$; ** $0,025 < p < 0,050$ et ***NS pour les tests d'activité neurosédative et myorelaxante.

Résultats et Discussion

Si les dérivés substitués par une chaîne phénylalkyle **2a**, **2b**, **2c** se sont montrés très peu toxiques avec une DL_{50} supérieure à 800 mg/kg, les autres composés ainsi que la spirohydantoïne **1** ont révélé des DL_{50} comprises entre 400 et 800 mg/kg (Tableau II).

L'activité neurosédative est très nette en ce qui concerne la diminution de la motilité spontanée pour l'ensemble des composés et particulièrement pour les spirohydantoïnes **1** et **2b**. Cependant, les dérivés substitués se sont montrés moins sédatifs que l'hydantoïne non-substituée **1**. En outre, cette activité est plus faible que celle induite par le diazepam. Vis-à-vis de la potentialisation du sommeil, tous les composés augmentent très nettement le temps de sommeil (Tableau II) et ceci sans modifier de façon significative le temps d'endormissement. Cette potentialisation très importante est observée même à des doses faibles de 12,5 mg/kg. Le diazepam, quant à lui potentialise la durée du sommeil de 153% dès la dose de 1 mg/kg et diminue de moitié le temps d'endormissement des animaux à cette même dose.

L'activité anti-convulsivante a été recherchée chez la Souris par le test de l'électrochoc supramaximal sur la corne. Les produits testés ont dans l'ensemble montré une activité notable à la dose de 100 mg/kg. A l'exception du composé **2b**, tous les dérivés substitués sur le cycle hydantoïne se sont révélés plus actifs que la spirohydantoïne **1**. A 100 mg/kg le composé **2a** assure 80% de protection des animaux contre les convulsions toniques provoquées par l'électrochoc. Cet effet demeure cependant nettement inférieur à celui du diazepam qui permet un degré de protection identique à la dose de 3 mg/kg. A titre de comparaison dans le même test, la phénytoïne assure 90% de protection à la dose de 5 mg/kg.

Parmi les différents tests d'incapacité motrice, nous avons choisi le test du «rota-rod» afin de mettre en évidence une éventuelle activité myorelaxante de nos dérivés. Le composé **1** s'est montré le plus actif à 50 mg/kg en provoquant une diminution de 90% des performances des animaux. Ce n'est qu'à 100 mg/kg que les dérivés **2a**, **2b** et **2f** font apparaître une incapacité motrice supérieure à 50%. Toutefois, cette activité pourrait être plutôt attribuée à des effets sédatifs qu'à de réelles propriétés myorelaxantes. En effet le diazepam présente 47% d'activité à 1 mg/kg, dose à laquelle il se révèle être peu sédatif (Tableau II).

L'introduction de chaînes phénylalkyle et pipéridinoalkyle sur la position 3 du cycle hydantoïne fait apparaître chez les dérivés **2a-f** une activité anxiolytique mise en évidence par le test des 4 plaques. En effet, les spirohydantoïnes *N*-substituées manifestent une activité croissante jusqu'à la dose de 5 mg/kg. Dès 7 mg/kg tous les dérivés montrent une diminution de l'activité anxiolytique, qui s'explique par l'apparition d'effets sédatifs. Les composés **2b** et **2c** présentent un effet notable mais inférieur à celui du diazepam; les autres composés sont peu actifs (Tableau III). Cette activité anxiolytique est à rapprocher de celle observée chez un autre type de spirodérivé, la buspirone [7].

Tableau III. Activité anxiolytique dans le test des quatre plaques.

Composés	Dose (mg / kg)				
	1	3	5	7	
1	—	0 ± 2***	—	1 ± 1***	-73 ± 5
2a	—	33 ± 12*	50 ± 3	—	20 ± 8*
2b	—	15 ± 9***	18 ± 11***	—	-33 ± 4
2c	—	10 ± 7***	16 ± 7***	—	-23 ± 6**
2d	—	0 ± 2***	10 ± 8***	—	-50 ± 4
2e	—	6 ± 4***	15 ± 10***	—	-37 ± 5
2f	—	0 ± 1***	33 ± 9**	—	-20 ± 10***
Diazepam	94 ± 1	80 ± 9	50 ± 18*	—	13 ± 7***

Le signe — placé devant le pourcentage d'activité anxiolytique reflète un effet sédatif. La significativité p a été inférieure à 0,001 sauf *0,001 < p < 0,005; **0,025 < p < 0,050 et ***NS.

Par ailleurs, dans le test du plateau basculant, les animaux n'ont manifesté aucun état cataleptique, excluant ainsi un effet neuroleptique.

Malgré certaines analogies structurales, les spirohydantoïnes *N*-substituées présentent une activité anti-convulsivante nettement inférieure à celle de la phénytoïne. Compte tenu des autres effets associés, leur profil se rapprocherait davantage de celui du diazepam. La substitution du cycle hydantoïne a été favorable à l'apparition d'une activité anxiolytique, assez remarquable pour ce type de composés. Les dérivés possédant une chaîne phénylalkyle se sont montrés moins toxiques que ceux substitués par une chaîne pipéridinoalkyle. Par contre, le rôle joué par la longueur de la chaîne alkyle ainsi que la présence d'un groupement phényle ou pipéridine sur celle-ci ne semblent pas déterminants quant à l'activité.

Protocoles expérimentaux

Chimie

La pureté des produits a été vérifiée systématiquement par chromatographie sur couche mince de gel de silice 60 F₂₅₄. Les points de fusion non-correctés ont été déterminés au bloc Maquenne électrique. Les analyses élémentaires ont été effectuées au Service Central d'Analyse du CNRS de Vernaison; les résultats, qui correspondent aux valeurs théoriques ± 0,4%, ne figurent pas dans le présent mémoire.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil Beckman 4240 et les spectres de RMN ¹H sur un appareil Varian EM 360A, l'étalon interne étant le tétraméthylsilane; ils sont en accord avec les structures proposées.

(Phényl-2 éthyl)-8 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4 **1**
Produit décrit dans un mémoire précédent [5].

Préparation des (phényl-2 éthyl)-8 (phénylalkyl)-3 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4 **2a-c**
(Phényl-2 éthyl)-8 (phénylméthyl)-3 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décanedione-2,4 **2a**: Méthode A. A une solution de 1 g (0,0037 mol) de spirohydantoïne **1** dans 20 ml d'éthanol absolu, on ajoute une solution d'éthylate de sodium préparée à partir de 0,085 g (0,0037 at/g) de sodium dissous dans 17 ml d'éthanol absolu. Par ailleurs, on dissout 0,63 g (0,0037 mol) de bromure de benzyle dans 13 ml d'éthanol absolu. La solution ainsi obtenue est ajoutée à celle de spirohydantoïne sodée préparée précédemment. On chauffe à reflux pendant 8 h. Après refroidissement, la

solution est filtrée et le solvant évaporé sous pression réduite. Le solide obtenu est lavé à l'éther diisopropylique puis recristallisé dans le mélange eau-éthanol (50/50).

Préparation des (phényl-2 éthyl)-8 [(pipéridinyl-1) alkyl]-3 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décane-2,4 2d-F

(Phényl-2 éthyl)-8 [(pipéridinyl-1) méthyl]-3 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décane-2,4 2d: Méthode B. Dans un ballon de 250 ml, on introduit 1 g (0,0037 mol) de spirohydantoïne **1** et 0,5 ml (0,0037 mol) de formaldéhyde à 37% dans 10 ml d'éthanol. Après dissolution complète à chaud, on ajoute 0,31 g (0,0037 mol) de pipéridine en solution dans 5 ml d'éthanol. Le mélange est porté à reflux sous agitation magnétique pendant 10 h. Après évaporation, le produit est précipité par de l'éther diisopropylique.

(Phényl-2 éthyl)-8 [(pipéridinyl-1)-2 éthyl]-3 triaza-1,3,8 spiro[4.5]décane-2,4 2e: Méthode C. A une solution de 1 g (0,0037 mol) de spirohydantoïne **1** dans 20 ml d'éthanol absolu, on ajoute une solution d'éthylate de sodium préparée à partir de 0,085 g (0,0037 at/g) de sodium dissous dans 17 ml d'éthanol absolu. Par ailleurs à une solution de 0,68 g (0,0037 mol) de chlorhydrate de chloro-2 éthylpipéridine dans 20 ml d'éthanol absolu, on ajoute une solution d'éthylate de sodium préparée à partir de 0,085 g (0,0037 at/g) de sodium dissous dans 17 ml d'éthanol absolu. La solution ainsi obtenue est ajoutée à celle de spirohydantoïne sodée préparée précédemment. On chauffe au reflux pendant 8 h. Après refroidissement, la solution est filtrée et le solvant évaporé sous pression réduite. Le solide obtenu est lavé à l'éther éthylique puis recristallisé dans le mélange eau-éthanol (50/50).

Pharmacologie

Cette étude a fait appel à divers types de tests chez la Souris mâle albinos Iffa-Credo OF1 d'un poids de 20 ± 2 g et chez le Rat mâle Wistar d'un poids de 200 ± 20 g. Les produits sont administrés à l'animal mis à jeun 24 h avant les tests par intubation œsophagienne en solution ou en suspension dans une solution aqueuse à 0,5% d'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC). Les souris sont réparties en lots de 10 animaux chacun: lot témoin (HPMC 0,5 p 100), lot de référence (diazepam), lot traité (produit à tester).

Toxicité

Elle a été recherchée par voie orale chez la Souris. Les animaux, maintenus dans une pièce à 20°C éclairée par la lumière du jour, sont observés par groupes de 6 pendant 24 h. Les survivants sont maintenus dans les mêmes conditions pendant une semaine.

Activité neurosédative

Elle est appréciée par 2 tests, l'activité motrice spontanée et la potentialisation du sommeil chez la Souris.

Le test d'actimétrie est effectué selon la technique de Boissier et Simon [8] à l'aide de l'actimètre photoélectrique Apelex. Les composés essayés sont administrés 30 min avant l'évaluation de la motilité spontanée et le comptage est effectué durant 10 min.

Dans le test de la potentialisation du sommeil réalisé selon Winter [9], les animaux reçoivent 30 min après l'administration des composés essayés, une injection intrapéritonéale de pentobarbital à la dose de 35 mg/kg. Le délai d'endormissement et la durée du sommeil sont appréciés par rapport aux témoins.

Activité anti-convulsivante

Elle est appréciée par le test de l'électrochoc supramaximal chez la Souris selon Krall [10]. Les substances sont administrées 30 min avant

l'application d'un électrochoc supramaximal sur la cornée des animaux. L'absence de convulsions toniques représente le critère de protection.

Activité myorelaxante

Elle a été recherchée par le test de la tige tournante ou «rota-rod» selon Kinnard et Carr [11] chez la Souris. Les composés essayés sont administrés 1/2 h avant le test; les animaux sont placés sur une tige en bois brut de 3 cm de diamètre tournant à la vitesse de 14 tours par minute. On compte le nombre de souris tombant de la tige pendant 5 min.

Activité anxiolytique

Elle est appréciée par le test des 4 plaques électrifiées selon Boissier *et al.* [12] chez la Souris. Les composés essayés sont administrés 1/2 h avant le test. La Souris est placée dans une enceinte dont le plancher, électrifiée, est constitué de 4 plaques séparées. Chaque fois que la Souris passe d'une plaque à l'autre, elle reçoit une décharge électrique. On compte pendant 1 min le nombre de passages punis.

Activité cataleptique

L'appréciation de la catalepsie chez le Rat a été effectuée par le test du plateau basculant selon Chermat et Simon [13]. Après administration des composés, les animaux sont soumis au test toutes les 30 min pendant 4 h. Le Rat est considéré comme cataleptique s'il n'a pas bougé pendant la durée du mouvement du plateau. Pour ce test nous avons utilisé comme substance de référence la chlorpromazine à la dose de 5 mg/kg.

Analyse statistique

L'estimation des résultats obtenus pour l'étude des activités neurosédative, myorelaxante et anxiolytique est effectuée d'après Schwartz [14]. Les résultats sont exprimés selon le pourcentage moyen de variation par rapport au lot témoin HPMC. Une analyse de variance à 2 facteurs suivie d'un test *t* de Student accompagné du risque d'erreur *p* a été réalisée sur les résultats bruts obtenus au cours de chaque test.

Références

- 1 Oldfield W. & Cashin C.H. (1965) *J. Med. Chem.* 8, 239-249
- 2 Centre Scientifique de la Société Suisse de Pharmacie (1987) *Index Nominum*. Médecine et Hygiène, Geneva, pp. 1018
- 3 Sarges R., Bordner J., Dominy B.W., Peterson M.J. & Whipple E.B. (1985) *J. Med. Chem.* 28, 1716-1720
- 4 Sarges R., Schnur R.C., Belletire J.L. & Peterson M.J. (1988) *J. Med. Chem.* 31, 230-243
- 5 Courtoison J.C., Coudert P., Couquelet J., Tronche P., Jonadet M. & Bastide P. (1988) *Farmacologia Ed. Sci.* 43, 153-160
- 6 Pedregal C., Trigo G.C., Espada M., Mathieu D., Pham Tan Luu R., Barcelo C., Lamarca J. & Elguero J. (1984) *J. Heterocyclic Chem.* 21, 1527-1531
- 7 Williams M. (1983) *J. Med. Chem.* 26, 619-628
- 8 Boissier J.R. & Simon P. (1965) *Arch. Int. Pharmacodyn.* 158, 212-221
- 9 Winter C.A. (1948) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 94, 7-11
- 10 Krall R.L. (1978) *Epilepsia* 19, 409-429
- 11 Kinnard W.J. & Carr C.J. (1957) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 121, 354-361
- 12 Boissier J.R., Simon P. & Aron C. (1968) *Eur. J. Pharmacol.* 4, 145-151
- 13 Chermat R. & Simon P. (1975) *J. Pharmacol.* 6, 493-496
- 14 Schwartz D. (1963) dans: *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes*. Editions Médicales Flammarion, Paris, 2e edn., pp. 246