

Anti-arythmiques apparentés au procainamide II. Synthèse et étude pharmacologique

Pierre REYNAUD¹, Jean-Daniel BRION², Emmanuel NGUYEN-TRI-XUONG¹, Catherine DAVRINCHE², François PIERI³ et Marie-Luce ARNOULD-GUERIN³

¹Laboratoire de Chimie Thérapeutique I, UFR des Sciences Pharmaceutiques, rue J.B.-Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex,

²Laboratoire de Chimie Thérapeutique, UFR des Sciences Pharmaceutiques, 1, rue Gaston-Veil, 44035 Nantes Cedex, et

³Laboratoire de Pharmacodynamie, Faculté de Pharmacie, 3, Place Louis-Dewailly, 80037 Amiens Cedex, France

(Reçu le 10 mai 1988, accepté le 31 janvier 1989)

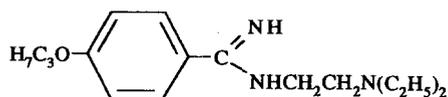
Résumé — L'activité anti-arythmique remarquable des *N*-[(*N,N*-diéthylamino)-2 éthyl] alcoxy-4 benzamidines antérieurement décrites nous a conduits à poursuivre leur étude, d'une part en préparant les pamoates des dérivés reconnus les plus actifs, d'autre part en procédant à diverses modifications structurales au niveau des substituants du noyau aromatique ainsi que sur la chaîne β -aminoalkylée portée par l'azote amidinique. Sept nouveaux dérivés ont été ainsi obtenus. Le pouvoir anti-agrégant de ces benzamidines et l'activité anti-arythmique marquée de la *N*-[[méthylène-dioxy-3,4 benzyl]-4 pipérazinyl]-2 éthyl] éthoxy-4 benzamidine nous ont incités à rechercher une inhibition de la thromboxane synthétase par ce composé.

Summary — **Anti-arrhythmic agents related to procainamide II. Synthesis and pharmacological study.** *In view of their marked anti-arrhythmic activity, we continued our studies on the *N*-[2-(*N,N*-diethylamino)-ethyl]-4-alkoxy-benzamides described previously. We prepared pamoates of the most active derivatives and also carried out various structural modifications on the ring substituents as well as on the β -aminoalkyl chain attached to the amidinic nitrogen atom. In this way, we prepared 7 new derivatives. The anti-aggregating activity of these benzamides and the marked anti-arrhythmic effect of *N*-[2-[4-(3,4-methylenedioxy-benzyl)-ethyl]-piperazinyl]-4-ethoxy-benzamide led us to test the latter compound for thromboxane synthetase inhibition.*

benzamidines / anti-arrhythmic activity / anti-aggregating activity / thromboxane synthetase inhibitor

Introduction

L'index thérapeutique de la *N*-[(*N,N*-diéthylamino)-2 éthyl] propoxy-4 benzamidine **1**, déterminé par le test de Lawson [1] et pour la voie orale, se révèle deux à trois fois supérieur à celui du procainamide, pris comme référence; le même index calculé pour les composés décrits précédemment [2] mais administrés par voie intra-péritonéale, est toujours supérieur à celui du procainamide. Ces résultats nous ont encouragés à poursuivre cette série chimique et à envisager, pour **1**, diverses pharmacomodulations. La *N*-[(*N,N*-diéthylamino)-2 éthyl] propoxy-4 cinnamamide, composé **740**, vinylogue de **1**, a été testée dans ce but.



Par ailleurs, un pouvoir anti-agrégant plaquettaire, associé à l'importante activité anti-arythmique de ces benzamidines nous a conduits à rechercher si ces molécules pouvaient ouvrir une voie nouvelle comme inhibiteurs de la biosynthèse ou de l'action de certaines prostaglandines.

Chimie

Les benzamidines, rassemblées dans le Tableau I, sont préparées soit par échange d'ammoniac dans les benzamidines primaires **2** avec une diamine appropriée [3] (Schéma 1, procédé A), soit plus rarement, par réaction entre le benzimidate de *O*-éthyle **3** et le chlorhydrate de la diamine [2] (Schéma 1, procédé B): le monochlorhydrate est généralement isolé.

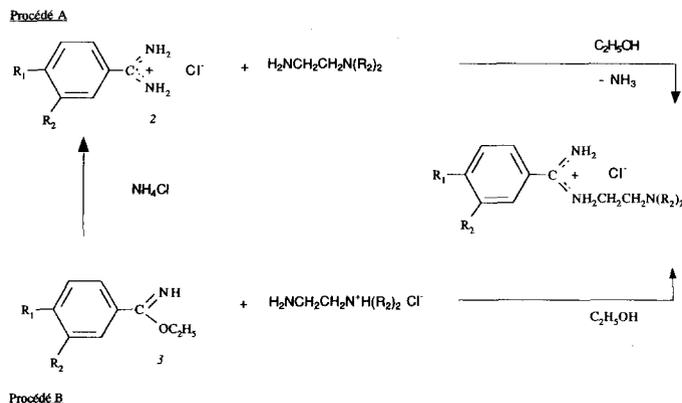


Schéma 1.

La [(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 piperazinyl]-2 éthylamine **6** est préparée selon deux méthodes à partir de la (méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazine **4**: soit en réduisant le pipérazinylacétonitrile **5** obtenu dans un premier temps, soit directement, par alcoylation avec le bromure de bromo-2 éthylammonium en présence d'hydroxyde de sodium (Schéma 2).

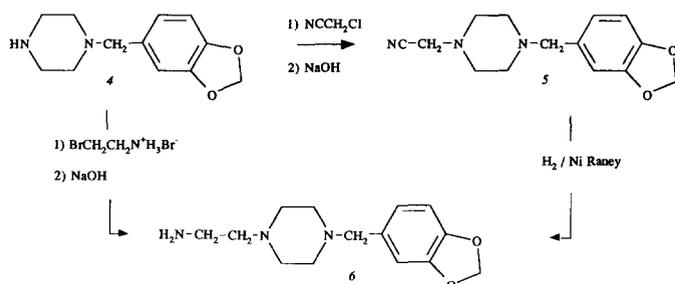


Schéma 2.

La *N*-[(*N,N*-diéthylamino)-2 éthyl]propoxy-4 cinnamide (composé **740**) est obtenue selon le procédé A, à partir de la propoxy-4 cinnamamide **8** (*E*), elle-même préparée après réaction du thioester de *O*-éthyle correspondant **7** (*E*), selon des protocoles décrits antérieurement et présentés dans le Schéma 3 [4, 5].

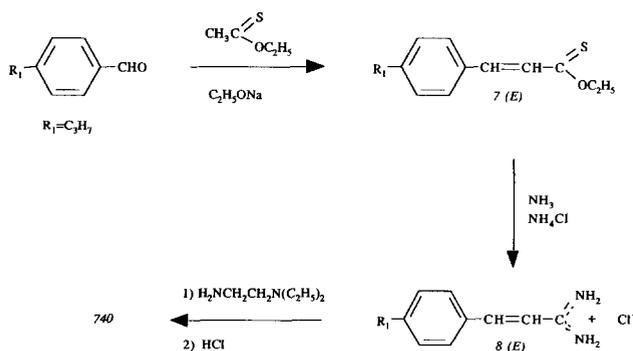


Schéma 3.

Pharmacologie: activités biologiques et Discussion

Toxicité aiguë

Elle a été déterminée chez la Souris par voie intra-péritonéale (i.p.) pour tous les composés solubles dans l'eau, et/ou par voie orale pour quelques molécules sélectionnées dans l'essai d'activité anti-arythmique, ainsi que pour trois autres composés insolubles dans l'eau.

Les doses létales 50 (DL₅₀) sont portées dans le Tableau II parallèlement à celles du procainamide, substance de référence.

Activité anti-arythmique

Nous avons repris les méthodes utilisées lors d'une précédente étude [2].

Une méthode de détection

Celle-ci est dérivée de celle proposée par Lawson [1]: la protection à l'égard de la fibrillation ventriculaire provoquée par l'inhalation de chloroforme chez la Souris.

Les substances ont été administrées par voie i.p. et/ou par voie orale. La voie orale a été retenue, en particulier pour le composé le plus actif par voie i.p.

Les doses efficaces 50 (DE₅₀) sont portées dans le Tableau II ainsi que les DL₅₀. Selon les voies d'administrations, l'index thérapeutique exprimé par le rapport IT =

$$\frac{DL_{50}}{DE_{50}}, \text{ est calculé.}$$

Le procainamide est actif à des doses élevées, d'où un index relativement bas; la voie orale permet d'obtenir un rapport d'activité sensiblement supérieur.

Dans la série étudiée, un certain nombre de composés développent une activité anti-arythmique intéressante. Les composés **740** et **515** [2] ainsi que les dérivés pipéraziniques **640**, **640A** et **638**, possèdent tous par voie i.p., un index supérieur à celui du procainamide; pour le **638**, il est même très élevé. Toutefois, l'index de ce dernier composé essayé par voie orale est moins favorable que celui du procainamide.

Activité vis-à-vis des arythmies induites par l'aconitine

La méthode utilisée et décrite précédemment [2], dérive de celle proposée par Witchitz *et al.* [6]. La perfusion i.v. (0,5 ml·min⁻¹) d'une solution d'aconitine à 150 µg·ml⁻¹ provoque l'apparition des troubles successifs: extrasystoles ventriculaires (ESV), tachycardie ventriculaire (TV), fibrillation ventriculaire (FV), dont on relève les temps d'apparition en secondes.

Cette méthode n'a été appliquée qu'aux composés les plus actifs dans le test de Lawson: **638** et **515**. Tous deux sont efficaces à des doses beaucoup moins élevées que celles utilisées pour le procainamide: 20 fois plus faible pour le **638** et 8 fois plus faible pour **515** (Tableau III).

Analyse des résultats

Nous avons déjà noté l'intérêt du substituant (*N,N*-diéthylamino)-2 éthyle chez les éthoxy-4 et propoxy-4 benzamidines [2]. La chaîne *N*-[(méthylène-dioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-2 éthyle apporte un renforcement très net de l'activité anti-arythmique par voie i.p. (voir

Tableaux II et III), mais aussi un effet central qui se traduit par une diminution notable de la motilité spontanée des souris (DE_{50} (i.p.): $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) et un antagonisme de l'hyperactivité induite par la dexamphétamine chez ces animaux (DE_{50} (i.p.) = $12,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). L'introduction d'un carboxyle en R_1 diminue la toxicité de la N -[(N,N -diéthylamino)-2 éthyl]benzamidine, mais également l'activité anti-arythmique (voir Tableaux II), ce que nous avons observé avec des groupements électronégatifs (NO_2 , F) [2]. Enfin la N -[(N,N -diéthylamino)-2 éthyl]propoxy-4 cinnamamide **740** confirme la validité du principe

de vinylogie, puisque son index thérapeutique possède une valeur voisine de celle de la N -[(N,N -diéthylamino)-2 éthyl]propoxy-4 benzamidine **1**.

Activité anti-agrégante plaquettaire

Certains dérivés de la benzamidine étant connus comme des anti-agrégants actifs au niveau de la membrane plaquettaire [7], nous avons voulu vérifier ce pouvoir sur deux éthers-4 benzamidines anti-arythmiques très actives: la N -[(N,N -diéthylamino)-2 éthyl]éthoxy-4 benzamidine **515** antérieurement préparée [2] et le composé **640**.

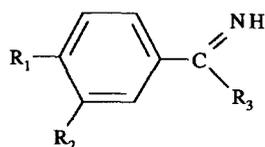
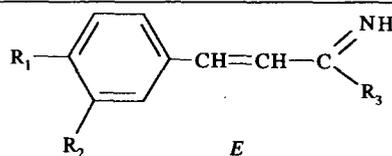


Tableau I. Constantes physiques.

N° composé	R_1	R_2	R_3	Procédé / Rdt %	Sel	F°C
515	$\text{H}_5\text{C}_2\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 86	dichlorhydrate	183 ^a
621	$\text{H}_5\text{C}_2\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 85	pamoate	-
640	$\text{H}_5\text{C}_2\text{O}$	H		A / 65	mésylate	135–136 ^b
640A	$\text{H}_5\text{C}_2\text{O}$	H		A / 65	chlorhydrate	195–196 ^c
530	H_3CO	H_3CO	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	B / 68	dichlorhydrate	167–168
619	$\text{H}_7\text{C}_3\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 85	pamoate	-
620	$i\text{-H}_7\text{C}_3\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 87	pamoate	-
638	$\text{H}_7\text{C}_3\text{O}$	H		A / 90	chlorhydrate	171
639	$\text{H}_7\text{C}_3\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	A / 90	chlorhydrate	144 ^b
680	$\text{H}_7\text{C}_3\text{O}$	H		B / 60	dichlorhydrate	215 ^b
751	H_2NCO	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 98	chlorhydrate	220 ^d
773	$\text{H}_5\text{C}_6\text{CH}_2\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 95	chlorhydrate	155 ^b



740	$\text{H}_7\text{C}_3\text{O}$	H	$-\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	A / 62	dichlorhydrate	128–129 ^b
------------	--------------------------------	---	-------------------------------------------------------------	--------	----------------	----------------------

Solvant de recristallisation: ^aisopropanol–acétate d'éthyle; ^béthanol–éther diéthylique; ^céthanol–acétone–éther diéthylique; ^déthanol.

Tableau II. Toxicité aiguë et détection de l'activité anti-fibrillante chez la Souris.

Composé	Voie intra-péritonéale			Voie orale		
	DL ₅₀ (mg·kg ⁻¹)	IT*	DE ₅₀ (mg·kg ⁻¹)	DL ₅₀ (g·kg ⁻¹)	IT	DE ₅₀ (g·kg ⁻¹)
Procaïnamide (référence)	380 ± 16,5	1,94	195 ± 13,4	2,6 ± 0,42	2,47	1,05 ± 0,155
515	430 ± 25,7	4,09	105 ± 6,29	-	-	
619	-	-	-	>2,5		>1
620	-	-	-	>1		≥1
621	-	-	-	≈1		≥1
638	200 ± 10,0	8,69	23 ± 3,8	0,64 ± 0,031	1,77	0,36 ± 0,011
640	170 ± 8,46	4,07	41,7 ± 5,9	-		-
640A	128 ± 5,78	3,28	39 ± 5,5	-		-
751	530 ± 20,2		>350	-		-
740	185 ± 65,2	3,7	50 ± 3,9	-		-

IT = DL₅₀/DE₅₀.**Tableau III.** Intoxication par l'aconitine chez le Cobaye.

Prétraitement (mg·kg ⁻¹ en i.v.)	n	Temps d'apparition des troubles (s)		
		ESV	TV	FV
Témoins	10	51,4 ± 11,6	79,0 ± 17,8	143,3 ± 37,8
Procaïnamide				
5	5	63,2 ± 15,8	99,0 ± 17,2	155,0 ± 55,7
10	5	70,0 ± 15,2 ^a	136,0 ± 84,5 ^b	187,0 ± 144,5
20	5	89,0 ± 25,7 ^b	124,0 ± 68 ^b	364,0 ± 86,6 ^b
Composés 515				
2,5	5	66,0 ± 10,2 ^b	79,0 ± 13,4 ^b	226,2 ± 108,1 ^b
Témoins	7	57,5 ± 12,4	65,4 ± 16,5	155,0 ± 16,8
Composé 638				
1	5	72,5 ± 14,3 ^b	85,2 ± 20,3 ^b	265,4 ± 86,1 ^b
2,5	4	119,5 ± 18,7 ^b	137,0 ± 26,7 ^b	452,5 ± 151,9 ^b

Temps d'apparition de divers troubles du rythme engendrés par la perfusion d'aconitine en l'absence ou en présence de divers prétraitements. Abréviations: ESV: extrasystoles ventriculaires; TV: tachycardie ventriculaire; FV: fibrillation ventriculaire; n: nombre d'animaux par lots. ^aP < 0,05. ^bP < 0,01. Test de Student.

[(*N,N*-diéthylamino)-2 éthyl]éthoxy-4 benzamidine **515** antérieurement préparée [2] et le composé **640**

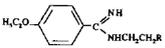
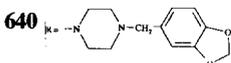
L'activité anti-agrégante a été déterminée par la méthode de Born et Cross [8] sur un agrégomètre type Labintel couplé à un enregistreur. On mesure la chute de l'absorbance d'un plasma riche en plaquettes (PRP), préalablement incubées avec la substance à étudier et sous agitation continue, lorsqu'on introduit un inducteur de l'agrégation dans la suspension.

La confirmation de l'effet anti-agrégant, comme le montre le Tableau IV, particulièrement pour le **640** dont l'activité est sensiblement identique à celle du dipyridamole, posait le problème de savoir si cette action *in vitro* était due à une inhibition de la thromboxane synthétase plaquettaire, ce que semblait indiquer une action assez nette du **640** vis-à-vis de l'agrégation induite par l'acide arachidonique, ou si elle résultait des suites d'un "by-pass" entre thromboxane A₂ (TxA₂) et prostacycline ou encore d'une autre cause. Enfin, il était intéressant de connaître si cette activité pourrait intervenir au niveau des parois vasculaires et artérielles. Nous avons essayé de répondre à cette question en recherchant une action anti-thromboxane sur une aorte de lapin.

Activité anti-thromboxane A₂ du composé **640**

Il est aujourd'hui bien connu que les plaquettes sont capables de synthétiser du thromboxane A₂ (TxA₂) à partir de l'acide arachidonique (AA) sous l'effet d'une TxA₂ synthétase; plus récemment, on a appris que non seulement les plaquettes, mais également l'endothélium vasculaire semblent capables d'une telle synthèse [9]. Le TxA₂ est l'un des plus puissants agents vasoconstricteurs actuellement connus [10]. Ainsi, l'adjonction d'AA à du sang artériel (oxygéné) servant de liquide de superfusion à une aorte de lapin, provoque la contraction de celle-ci. Toute substance capable d'inhiber la TxA₂ synthétase réduit fortement la contraction et peut même aboutir à la relaxation du lambeau d'aorte si elle dévie la cascade arachidonique vers la formation de prostaglandine I₂ (PGI₂) [11, 12].

Tableau IV. Concentrations provoquant une diminution de 50% de l'absorbance (moyenne de 6 essais).

Inducteur		
	515 R = -N(C ₂ H ₅) ₂	640 
ADP 2.5 μM	1,85 · 10 ⁻⁴ M	5,0 · 10 ⁻⁵ M
Adrénaline 5 μM	8,38 · 10 ⁻⁵ M	2,5 · 10 ⁻⁵ M
Collagène 1 γ/ml	2,50 · 10 ⁻⁴ M	2,8 · 10 ⁻⁵ M
AA	2,17 · 10 ⁻⁴ M*	9,5 · 10 ⁻⁵ M

*Moyenne de 4 essais.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les points de fusion sont mesurés sur un appareil Tottoli®. Les spectres IR sont réalisés entre deux lames de chlorure de sodium sous forme de film ou en pastilles de bromure de potassium Merck suivant l'état liquide ou solide des produits et enregistrés sur un appareil Perkin - Elmer 177. Les spectres RMN sont effectués avec un spectromètre Varian T60.

Les chlorures sont dosés par argentimétrie selon la méthode de Charpentier-Volhard.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur plaques Kieselgel 60 F₂₅₄ avec les sels ou les bases; le solvant de migration est constitué par le mélange cyclohexane / chloroforme / diéthylamine (5/4/1). L'irradiation UV à 254 nm est le révélateur le plus pratique; le réactif de Dragendorff donne également des résultats satisfaisants.

Tous les produits pour lesquels il est fait mention d'une formule moléculaire ont fourni des résultats analytiques C, H, N, correspondant à la formule à ±0,3%.

Préparation des chlorures de benzamidium **2**

Alcoxy-4 benzonitriles

Ils ont été obtenus selon [13] en chauffant sous agitation 24 h au reflux, 0,1 mol de cyano-4 phénol dissous dans une solution d'un équivalent de sodium dans l'éthanol absolu, avec un équivalent de bromure d'alkyle. Après addition d'un volume d'éther au milieu réactionnel, le bromure de sodium est essoré et le résidu d'évaporation des solvants, dissous dans du dichlorométhane, est extrait par de la soude à 10%. Les solutions organiques sont séchées sur sulfate de sodium et distillées.

Éthoxy-4 benzonitrile:

Rdt = 100%, E_{0,5} torr = 89–90°C, F = 60–61°C (éther);

propoxy-4 benzonitrile:

Rdt = 95%, E_{0,1} torr = 100–101°C, F = 48°C (éther);

isopropoxy-4 benzonitrile:

Rdt = 95%, E_{0,25} torr = 106–107°C, F = 50°C (éther);

benzyloxy-4 benzonitrile:

Rdt = 76%, E_{0,1} torr = 173–175°C.

Alcoxy-4 benzimidates d'éthyle **3**

A titre d'exemple, est décrite la synthèse de l'éthoxy-4 benzimidate d'éthyle, qui est aisément applicable aux autres composés de la série.

Éthoxy-4 benzimidate d'éthyle. Une solution de 44,10 g (0,30 mol) d'éthoxy-4 benzonitrile dans 50 ml d'éthanol anhydre et 50 ml de chloroforme est refroidie entre -10° et 0°C et saturée d'acide chlorhydrique gazeux. Le ballon bien protégé de l'humidité par une garde à chlorure de calcium est laissé 8 jours au réfrigérateur jusqu'à l'apparition de cristaux. On ajoute alors 600 ml d'éther anhydre et fait passer dans la suspension cristalline un courant d'ammoniac sec jusqu'à saturation en maintenant la température en dessous de -15°C. Après 2 h d'agitation à cette température, le chlorure d'ammonium est essoré rapidement et lavé par 3 × 150 ml d'éther diéthylique anhydre. L'évaporation de l'éther laisse un résidu huileux d'éthoxy-4 benzimidate d'éthyle (E_{0,2} torr = 120–125°C; 50 g, Rdt = 95%).

De la même manière sont obtenus : isopropoxy-4 benzimidate d'éthyle: E_{0,1} torr = 110–115°C; Rdt = 90%; propoxy-4 benzimidate d'éthyle: E_{0,15} torr = 116–118°C, F = 30–31°C, Rdt = 95%; benzyloxy-4 benzimidate d'éthyle: E_{0,5} torr = 185–187°C, Rdt = 75%; diméthoxy-3,4 benzimidate d'éthyle: E_{0,1} torr = 115°C, Rdt = 45%.

Chlorures d'alcoxy-4 benzamidium **2**

A titre d'exemple, on décrit chlorure d'éthoxy-4 benzamidium. Dans un ballon sont introduits 5,35 g (0,10 mol) de chlorure d'ammonium finement pulvérisé, 100 ml d'éthanol anhydre et 19,30 g (0,10 mol) d'éthoxy-4 benzimidate d'éthyle. Le milieu réactionnel est porté au reflux pendant 4 h. La totalité du sel a disparu et l'éthanol est chassé sous vide. Le chlorure d'éthoxy-4 benzamidium obtenu est ensuite recristallisé dans l'éthanol (F = 216–217°C, Rdt = 100%). L'amidine est déplacée de son sel par la quantité stoechiométrique d'éthylate de sodium dans l'éthanol. Après addition d'éther diéthylique le milieu réactionnel est filtré, puis additionné de la quantité stoechiométrique d'acide méthanesulfonique. Les points de fusion des chlorures d'alcoxy-4 benzamidium **2** figurent dans le Tableau V.

Tableau V.

R ₁	R ₂	SeI ^a	FoC ^b
H ₅ C ₂ -O-	H	chlorhydrate méthane-sulfonate 0,5 H ₂ O	216-217 168-169
H ₇ C ₃ -O-	H	chlorhydrate, 1 H ₂ O	211-212
<i>i</i> -H ₇ C ₃ -O-	H	chlorhydrate, 1 H ₂ O	210-211
H ₅ C ₆ -CH ₂ -O-	H	chlorhydrate, 0,5 H ₂ O	179-180

^aObtenu quantitativement.

^bRecristallisation dans l'éthanol.

[(Méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-2 éthylamine **6**

Via le [(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-acétonitrile **5**

Dans un réacteur équipé d'un agitateur mécanique, d'un réfrigérant à reflux surmonté d'une garde à chlorure de calcium, d'une ampoule d'addition et d'un thermomètre, 44 g (0,20 mol) de (méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazine **4** sont dissous dans 250 ml de toluène anhydre. On ajoute 15,10 g (0,20 mol) de chloracétonitrile dans 50 ml de toluène anhydre et le mélange est porté au reflux 3 h sous agitation. Après refroidissement, un abondant précipité de chlorhydrate s'est formé. On ajoute successivement 500 ml d'eau glacée, puis 100 ml de lessive de soude à 40% en agitant. La couche toluénique est séparée et la phase aqueuse extraite par 4 × 100 ml de chlorure de méthylène. Les extraits organiques sont réunis et séchés sur sulfate de sodium. L'élimination des solvants sous pression réduite laisse 50,5 g d'un résidu huileux (Rdt = 86%).

[(Méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-2 éthylamine **6**

50,5 g (0,194 mol) de [(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl] acétonitrile dissous dans 100 ml d'éthanol absolu sont introduits dans un autoclave de 500 ml. Sont ajoutés successivement 40 g de nickel de Raney, 250 ml d'éthanol absolu saturé d'ammoniac. Le milieu réactionnel est alors hydrogéné à 70°C pendant 6 h sous une pression d'hydrogène de 120 bars. Après refroidissement, le catalyseur est séparé et l'éthanol éliminé sous pression réduite. Le résidu verdâtre huileux est fractionné par distillation ($E_{0,1 \text{ torr}} = 184-186^\circ\text{C}$, 36,8 g, Rdt = 72%).

Méthode directe

Dans un ballon muni d'un réfrigérant avec garde à chlorure de calcium sont introduits 44,05 g (0,2 mol) de pipéronylpipérazine base, 40,98 g (0,2 mol) de bromure de bromo-2 éthylammonium et 250 ml de *n*-propanol. Le mélange réactionnel est porté au reflux pendant 8 h, refroidi à température ambiante et versé sur 150 ml de glace pilée. Après addition sous agitation de 150 ml de solution de soude à 40%, le milieu, franchement alcalin, est extrait par 4 × 100 ml de chlorure de méthylène. Les extraits réunis sont séchés sur sulfate de sodium. Après filtration et élimination du solvant, le résidu huileux assez épais est fractionné par distillation sous vide ($E_{0,1 \text{ torr}} = 179-184^\circ\text{C}$, 39,5 g Rdt = 75%).

Propoxy-4 cinnamamide **8**

(Propoxy-4 phényl)-3 propèthioate de O-éthyle (E) **7**

A une solution de 1,725 g de sodium (0,075 at-g) dans 40 ml d'éthanol anhydre, on ajoute 7,81 g d'éthanothioate de O-éthyle (0,075 mol) dissous dans 10 ml d'éthanol absolu. Le mélange est agité 15 min et refroidi dans un bain d'eau glacée. On additionne alors 12,31 g (0,075 mol) de propoxy-4 benzaldéhyde dilué dans 10 ml d'éthanol. La température du milieu s'élève vers 10°C et, après 5 min, le thionoester commence à cristalliser. La réaction est abandonnée au réfrigérateur 21 h, temps au bout duquel l'aldéhyde a pratiquement disparu (CCM). Le produit est essoré, lavé soigneusement à l'eau glacée puis rapidement à l'éthanol refroidi à 0°C (aiguilles jaune d'or) (10,9 g, Rdt = 61%). IR (cm⁻¹) = 1245 (ν C=S). RMN (CDCl₃, δ): 0,95 (3H, t, OCH₂CH₂CH₃); 1,3 (3H, t, OCH₂CH₃); 1,45-2,10 (2H, m, OCH₂-CH₂CH₃); 3,85 (2H, t,

OCH₂CH₂CH₃); 4,50 (2H, q, OCH₂CH₃); 6,75 (1H, d, *J* = 16 Hz, =CHC(S)-); 6,65-7,50 (4H, H_{ar}); 7,60 (1H, d, *J* = 16 Hz, Ar-CH=).

Chlorure de propoxy-4 cinnamamidinium monohydrate **8**

Dans un ballon équipé d'un réfrigérant à reflux surmonté d'une garde à CaCl₂, sont introduits 0,530 g (10 mmol) de chlorure d'ammonium finement pulvérisé, 10 mmol d'ammoniac sec en solution éthanolique et 2,50 g (10 mmol) de (propoxy-4 phényl-4)-3 propèthioate de O-éthyle (E). Le milieu réactionnel est porté au reflux pendant 14 h en ajoutant après 30 et 90 min encore 10 mmol d'ammoniac alcoolique et devient alors limpide. Après élimination du solvant, le résidu huileux obtenu est trituré plusieurs fois avec de l'éther diéthylique et cristallisé (cristaux jaune-pâle, hygroscopiques: F = 90°C (éthanol-éther, 1,99 g, Rdt = 77%). IR (cm⁻¹) = 2800-2500 (ν + NH), 1635 (ν C=N). RMN (DMSO-d₆, δ): 1,0 (3H, t, OCH₂CH₂CH₃); 1,45-2,0 ((2H, m, O-CH₂CH₂CH₃); 4,0 (2H, t, OCH₂-CH₂CH₃); 6,7 (1H, d, *J* = 16 Hz,

=CH-C^N); 6,9-7,7 (4H, H_{ar}); 8,0 (1H, ds, *J* = 16 Hz, Ar-CH=); 8,7 (4H, s.e., NH).

Benzamidines N-substituées et vinylogues

Procédé A: méthanesulfonate de N-[(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-2 éthyl éthoxy-4 benzamidinium **640**

Dans un ballon équipé d'un réfrigérant, sont dissous dans 40 ml d'éthanol absolu 2,70 g (10 mmol) de méthanesulfonate d'éthoxy-4 benzamidinium et 2,56 g (10 mmol) de [(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl]-2 éthylamine. Le mélange est chauffé au reflux pendant 4 h sous courant d'azote. L'alcool est alors évaporé et le résidu cristallisé purifié dans un mélange éthanol-éther (F = 135-136°C, Rdt = 85%).

IR (cm⁻¹) = 3190, 3040 (ν N-H), 2890, 2820 (ν N⁺-H), 1665 (ν C=N). RMN (DMSO-d₆, δ): 1,30 (3H, t, *J* = 7 Hz, OCH₂CH₃); 2,20-2,65

(10H, m, H₂C-N⁺CH₂); 2,3 (3H, s, CH₃SO₃⁻); 3,20-3,70 (4H, m, -C(NH)NHCH₂ et CH₂-Ar); 4,10 (2H, q, *J* = 7 Hz, OCH₂CH₃); 5,90 (2H, s, -OCH₂O-); 6,65-6,85 (3H, m, H_{ar}); 7,10-7,70 (4H, m, H_{ar}); 9 (3H, m, N⁺-H).

Chlorure de N-(diéthylamino-2 éthyl)carboxamido-4 benzamidinium **751**

Un mélange de 3,99 g (20 mmol) de chlorure de carboxamido-4 benzamidinium (Aldrich) et de 2,324 g (20 mmol) de N,N-diéthylaminoéthylamine dans 50 ml d'éthanol absolu est chauffé au reflux pendant 5 h sous agitation. Le chlorure d'amidinium se solubilise peu à peu tandis que la solution se colore en violet. Après réaction, l'évaporation de l'éthanol laisse un résidu cristallisé (5,85 g, Rdt = 98%). Une recristallisation dans l'éthanol fournit un échantillon pur. IR (cm⁻¹) = 3380, 3200 (ν N-H), 1690 (ν C=O), 1665 (ν C=N). RMN (DMSO-d₆, δ): 1,0 (6H, t, *J* = 8 Hz, -N(CH₂CH₃)₂); 2,65 ((4H, q, *J* = 8 Hz, -N(CH₂CH₃)₂); 2,8 (2H, m, CH₂-N⁺); 3,6 (2H, t, *J* = 7 Hz, -C(NH)NHCH₂-); 7,85-8,15 (4H, H_{ar}); 8,50 (5H, m, NH et NH₂).

Dichlorure de N-(diéthylamino-2 éthyl) propoxy-4 cinnamamidinium dihydrate **740**

A 2,407 g (10 mmol) de chlorure de propoxy-4 cinnamamidinium en solution dans 15 ml d'éthanol, est ajouté 1,16 g (10 mmol) de N,N-diéthyléthylène-diamine. Après avoir porté le mélange au reflux pendant 6,5 h, le solvant est éliminé par distillation sous vide. Le résidu sirupeux, trituré avec de l'éther diéthylique à plusieurs reprises, finit par cristalliser. Les cristaux sont repris par la quantité minimale d'éthanol à chaud. Après addition de quelques gouttes d'acétone et d'éther diéthylique, la solution abandonne le monochlorure d'amidinium attendu (cristaux jaunes hygroscopiques (hémi-hydrate), F = 136-137°C, Rdt = 62%).

Une solution éthanolique d'acide chlorhydrique, ajoutée en quantité stoechiométrique, à une solution éthanolique du monochlorure conduit quantitativement au dichlorure après addition d'éther (cristaux jaunes,

F = 128-129°C). IR (cm⁻¹) = 2800-2500 (ν N⁺-H), 1650 (ν C=N), 1600 (ν C=C). RMN (DMSO-d₆, δ): 0,75-1,45 (9H, m, CH₃); 1,45-1,9 (2H, m, O-CH₂CH₂CH₃); 2,65-3,45 (8H, m, -N⁺-CH₂-

CH₂-N(CH₂-CH₃)₂); 3,8 (2H, t, O-CH₂CH₂CH₃); 6,45 (1H, d, *J* = 16 Hz, =CH-C(NH)NH-); 6,50-7,30 (4H, H_{ar}); 7,85 (1H, d, *J* = 16 Hz, Ar-CH=); 8,3-11 (4H, m, NH).

Procédé B: Dichlorure de N-[(méthylènedioxy-3,4 benzyl)-4 pipérazinyl-1] propoxy-4 benzamidineum 680

Dans un ballon renfermant une solution de 2,93 g (10 mmol) de dichlorhydrate de N-(méthylènedioxy-3,4 benzyl) pipérazinium préparée extemporanément, dans 30 ml d'éthanol absolu, on introduit 2,07 g (10 mmol) de propoxy-4 benzimidate d'éthyle en solution dans 20 ml d'éthanol anhydre. Après un chauffage au reflux pendant 3,5 h, le solvant est éliminé par distillation sous vide et le résidu trituré à plusieurs reprises avec de l'éther diéthylique, puis décanté. Les cristaux de dichlorhydrate sont recristallisés dans le mélange éthanol-éther (F = 215°C, 2,72 g, Rdt = 60%). IR (cm⁻¹) = 3380, 3180 (ν N-H), 2710, 2620, 2480 (ν

N-H), 1640 (ν C=N). RMN (DMSO-d₆, δ): 0,95 (3H, t, J=7 Hz, OCH₂CH₂CH₃); 1,7 (2H, m, J=7 Hz, OCH₂CH₂CH₃); 2,20-

2,65 (4H, m, -CH₂ N-); 2,75-3,05 (2H, m, =N⁺ CH₂-);

3,30 (2H, s, N-CH₂Ar); 3,2-3,7 (2H, m, =C(=NH₂)N-CH₂-); 3,90 (2H, t, OCH₂CH₂CH₃); 5,80 (2H, s, OCH₂O); 6,45-6,7 (3H, m, H_{ar}); 6,85 et 7,25 (4H, m, H_{ar}).

Pamoates 619, 620, 621

10 mmol de monochlorure de benzamidineum sont solubilisées dans 10 ml d'acide chlorhydrique N. A cette solution sont ajoutés 10 mmol de pamoate disodique dissoutes dans 100 ml d'eau distillée. Le pamoate de la benzamidine précipite immédiatement et quantitativement. Après filtration et lavage à l'eau, la poudre est séchée. Ces pamoates sont difficilement fusibles et pratiquement insolubles dans l'eau.

Pharmacologie

Schéma expérimental

Des lapins mâles d'un poids moyen de 2,5 kg sont héparinés (2000 UI par lapin); 60 ml de sang sont prélevés au niveau de l'artère médiane de l'oreille. Ne sont conservés pour l'expérience que les lapins ayant plus de 200 × 10³ plaquettes par mm³ de plasma.

Après sacrifice de l'animal par rupture des vertèbres cervicales, l'aorte thoracique est prélevée puis découpée en spirales de 4 mm de large. Trois lambeaux d'aorte de 4 cm de long sont découpés puis placés dans une solution de Krebs-Henseleit (contenant 95% d'O₂ et 5% de CO₂) thermostatée à 38°C, en attendant l'expérience proprement dite (30 min en moyenne). Chaque morceau d'aorte est mis sous tension (3 g) dans un système dans lequel il est relié à un transducteur isotonique couplé à un Graphispot® (Sefram) pour l'enregistrement graphique. La spirale aortique est tout d'abord superfusée avec le liquide de survie à la vitesse de 55 ml·h⁻¹, puis quand la stabilisation de l'aorte est obtenue, le liquide de survie est remplacé par le sang artériel autologue, superfusé à la

même vitesse. Trois minutes après le début de la surperfusion, 0,100 mg d'arachidonate de sodium est injecté dans le sang, juste avant son arrivée sur la spirale aortique. La contraction est alors enregistrée et correspond à une élévation (en cm de la courbe, sur le tracé).

L'adjonction de 0,100 mg d'arachidonate au sang autologue constituant le liquide de surperfusion provoque, lorsque celui-ci s'écoule sur le lambeau d'aorte, une contraction des fibres musculaires lisses dont l'amplitude moyenne est de 15,2 cm (Tableau VI). Malgré des variations individuelles, la contraction obtenue au niveau des 3 lambeaux d'une même aorte est en moyenne, chez les 4 lapins étudiés, strictement comparable.

La contraction des fibres musculaires lisses engendrées par l'arachidonate de sodium est donc un phénomène répétable.

L'activité anti-thromboxane A₂ a été déterminée sur le composé 640, de préférence au composé 638, malgré son meilleur index thérapeutique. En effet, il a été mis en évidence chez le Chien, pour cette molécule, des effets bradycardisant et hypotenseur.

A la dose de 0,1 mg·ml⁻¹, le 640 réduit l'amplitude de la contraction de façon modérée sur une aorte (-30%) mais de manière beaucoup plus marquée sur une autre (-65,6%). Cette diminution de la contraction aortique se révèle encore plus nette à 1 mg·ml⁻¹, la contraction étant pratiquement annulée sur une aorte. La moyenne du pourcentage de diminution de la contraction, calculée sur les 3 aortes, est alors égale à 70% (Tableau VI).

La technique de surperfusion mise en œuvre dans cette expérience permet d'étudier les interactions qui se produisent entre un muscle lisse isolé (spirale d'aorte thoracique) et les produits de bio-dégradation de l'AA formés dans le sang autologue du lapin chez lequel l'aorte a été prélevée. On assiste en effet à une contraction du lambeau d'aorte en réponse à la synthèse de TxA₂ qui a lieu dans les plaquettes tandis qu'à l'inverse le muscle lisse se relâche au contact de la PGI₂ formée, elle, au niveau de l'endothélium vasculaire; la même relaxation s'observe lorsque de la PGI₂ exogène est ajoutée au superfusé, en l'absence d'AA.

L'effet du composé 640 laisse à penser qu'il pourrait aussi exercer des effets sur les spasmes coronaires déclenchés par l'anxiété et l'effort.

Un dosage des taux de prostacycline PGI₂, qui n'a pas été réalisé ici, devrait apporter un élément de réponse.

Remerciements

Nous remercions M^{lle} Sophie Mairesse-Lebrun pour la réalisation des microanalyses, M^{me} J. Mahuteau pour son aide dans l'interprétation des spectres de RMN, M^{me} le Docteur Lecrubier (Laboratoire Central d'Hématologie de l'Hôtel-Dieu, Paris, Service de M. le Professeur M. Samama) qui a procédé aux mesures de l'activité anti-agrégante plaquettaire, M^{lle} M.G. Borgeix et M. J.M. Dupont (Département de Thérapeutique Expérimentale), S.I.R. International, 92120 Montrouge) pour la détermination de l'activité anti-thromboxane A₂.

Tableau VI. Valeurs de la contraction aortique de 3 lambeaux engendrée par l'arachidonate de sodium seul et en présence du 640.

Séries	Contraction aortique (cm)				
	1 ^{er} Lambeau	2 ^e Lambeau	% Variation ^a	3 ^e Lambeau	
	Moyenne	Moyenne		Moyenne	% Variation
Contrôle	15,2 ± 1,27	15,7 ± 1,38	+ 3,7 ± 6,25	15,4 ± 1,33	+ 1,5 ± 3
640	16,7 ± 1,69	-	-35,6 ± 15,94 ^b	-	-70,1 ± 12 ^c

^aVersus contraction obtenue sur le premier lambeau d'aorte.

^bA la dose de 0,1 mg·ml⁻¹.

^cA la dose de 1 mg·ml⁻¹.

Références

- 1 Lawson J.W. (1968) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 160, 1, 22
- 2 Reynaud P., Brion J.D., Menard G., Morin H. & Guerin M.L. (1976) *Eur. J. Med. Chem.* 11, 513
- 3 Reynaud P., Brion J.D. & Menard G. (1978) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2, 449
- 4 Reynaud P., Moreau R.C. & Tetard J.C. (1966) *C.R. Acad. Sci., (C)* 263, 788
- 5 Davrinche C., Brion J.D. & Reynaud P. (1984) *Synth. Commun.* 14, 1181
- 6 Witchitz S., Giudicelli J.F., Viars P., Larno S. & Boissier J.R. (1971) *Cœur Med. Int.* 10, 281
- 7 Larcen A. (1976) in: *Actualités Pharmacologiques*. Masson, Paris, 28^e série, p. 11
- 8 Born G.V.R. & Cross M.J. (1963) *J. Physiol.* 168, 178
- 9 Aiken J.W. (1982) in: *Proc. Vth International Conference on Prostaglandins*. (Florence, 18–21 May), Raven Press, New York
- 10 Vermyleen J. (1982) in: *Platelets: A Multi-Disciplinary Approach* (De Gaetano G. & Garattini S., eds.) Raven Press, New York, pp. 3–16
- 11 Borzeix M.G. & Cahn J. (1982) in: *Proc. Vth International Conference on Prostaglandins* (Florence, 18–21 May), Raven Press, New York
- 12 Corman R.R. (1982) in: *Proc. Vth International Conference on Prostaglandins* (Florence, 18–21 May), Raven Press, New York
- 13 Partridge M.W. (1949) *J. Chem. Soc.* 3043