

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 27171 A1** (51) Cl. internationale : **C07D 335/10**

(43) Date de publication :
03.01.2005

(21) N° Dépôt :
27802

(22) Date de Dépôt :
27.07.2004

(30) Données de Priorité :
07.02.2002 DE 10204989.0

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:
PCT/EP03/00653 23.01.2003

(71) Demandeur(s) :
SANOFI - AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH, Bruningstrasse 50 65929 Frankfurt (DE)

(72) Inventeur(s) :
BELOW, PETER ; KLEEMANN, HEINZ-WERNER

(74) Mandataire :
CABINET AKSIMAN

(54) Titre : **DIHYDRO-THIA-PHENANTHRENE-DARBONYL-GUANIDINES, PROCEDE DE PRODUCTION DESDITES SUBSTANCES ET LEUR UTILISATION EN TANT QUE MEDICAMENT OU PRODUIT DE DIAGNOSTIC, ET MEDICAMENT CONTENANT LESDITES SUBSTANCES**

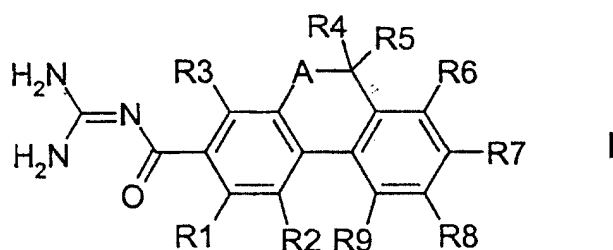
(57) Abrégé : DIHYDRO-THIA-PHÉNANTHRÈNE-CARBONYL-GUANIDINES DE FORMULE (I) DANS LAQUELLE R1 À R9 POSSÈDENT LA SIGNIFICATION FIGURANT DANS LES REVENDICATIONS, QUI SONT ADAPTÉES EN TANT QUE MÉDICAMENTS ANTI-ARYTHMIQUES À COMPOSANTE CARDIOPROTECTRICE POUR LA PROPHYLAXIE ET LE TRAITEMENT DES INFARCTUS, AINSI QUE POUR LE TRAITEMENT DE L'ANGINE DE POITRINE. LESDITES SUBSTANCES INHIBENT ÉGALEMENT DE MANIÈRE PRÉVENTIVE LES PROCESSUS PATHOPHYSIOLOGIQUES LORS DE L'APPARITION DE LÉSIONS INDUITES PAR L'ISCHÉMIE, EN PARTICULIER LORS DU DÉCLENCHEMENT D'ARYTHMIES CARDIAQUES INDUITES PAR L'ISCHÉMIE.

LES DIHYDROTHIAPHENANTHRENECARBONYLGUANIDIES, PROCEDE DE LEUR PREPARATION, LEUR UTILISATION EN TANT QUE MEDICAMENT OU EN AIDE AU DIAGNOSTIQUE

5 Description

Les dihydrothiaphenanthrenecarbonylguanidies, procédé de leur préparation, leur utilisation en tant que médicament ou en aide au diagnostique, et les médicaments qui les comprennent.

10 L'invention concerne les dihydrothiaphenanthrenecarbonylguanidies de la formule I



Dans laquelle les significations se présentent comme suit :

R(1) et R(3)

15 Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, alkoxy ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, F, Cl, Br, I, CN, NR(10)R(11), -Op- (CH₂)_n- (CF₂)_x-CF₃ ou -(SO_m)_p-(CH₂)_n-(CF₂)_x-CF₃ ;

R(10) et R(11)

20 Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ou -(CH₂)_n-(CF₂)_x-CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

n est zéro, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

x et p

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

25 R(2) est hydrogène, F, Cl, Br, I, CN, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, méthoxy, cycloalkyle ayant 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 atomes de carbone,

R(4) et R(5)

Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ;

30 R(6), R(7), R(8) et R(9)

03 JAN 2006

1. 9.711-11

CABINET AKSIMAN
 CONSEIL EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
 105 Bd. Royal El Miskini
 CASABLANCA - MAROC
 Tél/Fax: (212.22) 31.05.50 / 31.04.51

Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, alkoxy ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, F, Cl, Br, I, CN, NR(12)R(13), -Oq-(CH₂)_r-(CF₂)_s-CF₃ ou -(SO_w)_t-(CH₂)_u-(CF₂)_v-CF₃ ;

R(12) et R(13)

5 Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

r et u

est zéro, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

10 q, s, t et v

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

15 Forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphtalène ;

A est -S-, -SO- ou -SO₂-

et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

20 La préférence est accordée aux composés de la formule I dans laquelle les significations se présentent comme suit :

R(1) et R(3)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy, F, Cl, CN, NR(10)R(11), -Op-(CH₂)_n-CF₃ ou -(SO_m)_p-(CH₂)_n-CF₃ ;

25 R(10) et R(11)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂-CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

n est zéro, 1, 2 ou 3 ;

30 p est indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl, CN, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, méthoxy, cycloalkyle ayant 3, 4, 5 ou 6 atomes de carbone,

R(4) et R(5)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

35 R(6), R(7), R(8) et R(9)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ; méthoxy, éthoxy, F, Cl, CN, NR(12)R(13), -Oq-(CH₂)_r-CF₃ ou -(SO_w)_t-

$(CH_2)_u-CF_3$;

R(12) et R(13)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

5 w est zéro, 1 ou 2 ;

r et u

est zéro, 1, 2 ou 3 ;

q et t

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

10

ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

Forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

15 A est -S-, -SO- ou -SO₂-

et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

Une préférence particulière est accordée aux composés de la formule I dans laquelle les significations se présentent comme suit :

20 R(1)

est hydrogène, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy, F, Cl, NR(10)R(11), -Op-(CH₂)_n - CF₃ ou -(SO_m)_p -(CH₂)_n-CF₃ ;

R(10) et R(11)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂- CF₃ ;

25

m est zéro, 1 ou 2 ;

n, p sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl, méthyle, cycloalkyle ayant 3, 4, 5 ou 6 atomes de carbone,

R(3), R(4) et R(5)

30 sont hydrogène ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ; méthoxy, éthoxy, F, Cl, NR(12)R(13), -Oq-(CH₂)_r -CF₃ ou -(SO_w)_t -(CH₂)_u-CF₃ ;

R(12) et R(13)

35 sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

q, r, t et u

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

5

A est -S-, -SO- ou -SO₂-

et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

Une préférence très particulière est accordée aux composés de la formule I dans laquelle les significations se présentent comme suit :

10

R(1)

est hydrogène, méthyle, méthoxy, éthoxy, Cl, NR(10)R(11), -O-CH₂-CF₃ ou -(SO_m)_p-
-(CH₂)_n-CF₃ ;

R(10) et R(11)

15 sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂-
CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

p est zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl ou méthyle ;

20 R(3), R(4) et R(5)

sont hydrogène ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ; méthoxy, éthoxy, F, Cl,
-O-CH₂-CF₃ ou -(SO_w)_t-(CH₂)_u-CF₃ ;

25 w est zéro, 1 ou 2 ;

t et u

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

ou

30 R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

A -SO₂-

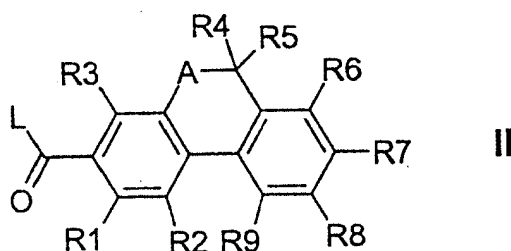
et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

35

Les composés de la formule I peuvent, si une substitution appropriée est fournie, exister sous des formes stéréoisomériques. Si les composés de la formule I contiennent un ou

plusieurs centres d'asymétrie, ceux-ci peuvent avoir, indépendamment l'un de l'autre, la configuration S ou la configuration R. Tous les stéréoisomères possibles, ex. les énantiomères ou les diastéréomères, et les mixtures de deux ou plusieurs formes stéréoisomériques quelques soient leur rapport, ex. les énantiomères et/ou les diastéréomères, appartiennent à la présente invention. Par conséquent, et à titre d'exemple les énantiomères entrent dans le cadre de la présente invention sous forme énantiopure, aussi bien en tant qu'antipodes lévogyres et dextrogyres, et sous forme de mixtures de deux énantiomères à divers rapports ou sous forme de racemates. Les stéréoisomères individuels peuvent être préparés si l'on veut par le fractionnement d'une mixture par des méthodes classiques ou, par exemple, par la synthèse stéréo-sélective. Si les atomes mobiles d'hydrogène sont présents, la présente invention contient toutes les formes tautomériques des composés de la formule I.

Les radicaux d'alkyle désignés peuvent être sous forme de chaîne droite ou ramifiés. L'invention concerne en outre un procédé pour la préparation du composé I, qui comprend la réaction d'un composé de la formule II



dans laquelle R(1) à R(9) et A ont les significations précisées, et L est un groupe partant disposé à la substitution nucléophile, par le guanidine.

Les dérivés d'acide activés de la formule II dans laquelle L est un alkoxy, de préférence un méthoxy, un groupe, un groupe de phénoxy, méthylthio, groupe de 2-pyridylthio, un hétérocycle de nitrogène, de préférence 1-imidazolyl, sont avantageusement obtenus d'une manière connue d'office à partir des chlorures de carbonyle sous-jacents (formule II, L = Cl), qui peuvent à leur tour être préparés de manière connue à partir des acides carboxyliques sous-jacents (formule II, L = OH), par exemple avec le chlorure de thionyle.

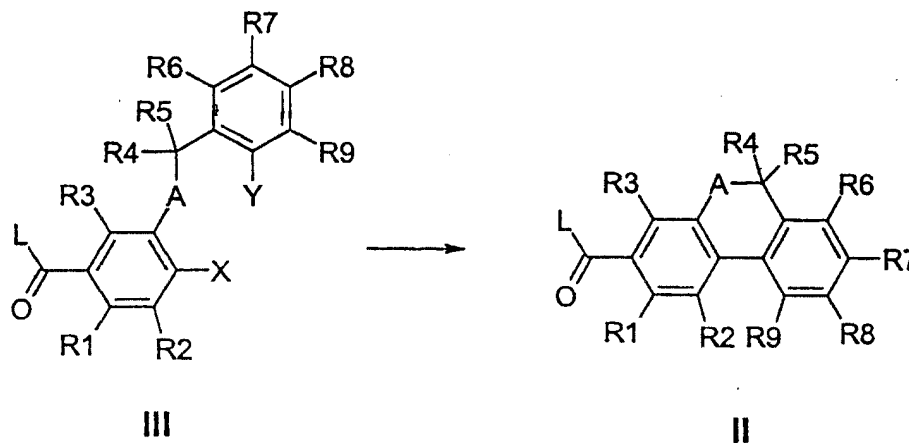
Outre les chlorures de carbonyle de la formule II (L = Cl), il est également possible de préparer d'autres dérivés d'acide activés de la formule II de manière connue d'elle-même directement à partir des dérivés d'acide benzoïque sous-jacents (formule II, L = OH), comme les esters de méthyle de la formule II avec L = OCH₃ par le traitement avec le HCl gazeux

dans le méthanol, les imidazolides de la formule II par le traitement avec le carbonylediimidazole [L = 1-imidazolyl, Staab, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1, 351 –367 (1962)], les anhydrides mixés II avec Cl-COOC₂H₅ ou le chlorure de tosyle en présence de triéthylamine dans un solvant inerte, ainsi que les activations des acides benzoïques avec le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) ou avec O-[(cyano (éthoxycarboxyle) méthylène) amino] – 1,1,3,3-tetraméthyluronium tetrafluoroborate (« TOTU ») [Proceedings of the 21st European Peptide Symposium, Peptides 1990, Editors E. Giralt and D. Andreu, Escom, Leiden, 1991]. Un nombre de méthodes adéquates pour la préparation des dérivés d'acide carboxylique activés de la formule II sont indiqués dans J. March, Advanced Organic Chemistry, 3rd Edition (John Wiley & Sons, 1985), page 350, indiquant la littérature source.

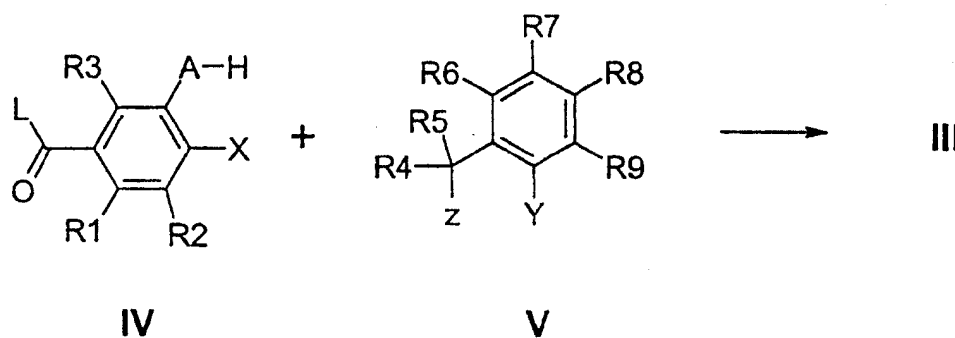
La réaction d'un dérivé d'acide carboxylique activé de la formule II avec le guanidine a lieu d'une manière connue d'office dans un solvant organique inerte mais polaire protique ou aprotique. Ce sont ceux qui se sont révélés adéquats dans la réaction des benzoates de méthyle (II, L = OMe) avec le guanidinométhanol, l'isopropanol ou le THF de 20°C au point d'ébullition de ces solvants. La majorité des réactions des composés II avec le guanidine sans sel ont avantageusement été réalisées dans des solvants inertes aprotiques comme le THF, le diméthoxyéthane, la dioxan. Toutefois, l'eau peut également être utilisée comme solvant dans la réaction de II avec le guanidine si une base comme, par exemple, NaOH est utilisée. Lorsque L est Cl, il est avantageux d'ajouter un désactiveur acide, ex. sous forme de guanidine excessif pour lier l'acide hydrohalique.

L'assemblage du cadre de l'acide dihydrothiaphenanthrenecarboxylique commence avantageusement par les benzylsulfanyls, les phénylémethanesulfinyles ou les phénylémethanesulfonyls convenablement substitués. Ceux-ci sont soumis au couplage aryle-aryle intramoléculaire tel qu'il est connu en principe (voir Chem. Rev. 95 (7), 2457 (1995) ou « Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions », Diederich, Francois ; Stang, Peter J. ; Editors Germany (1998) Publisher: (Wiley-VCH, Weinheim, Germany), 517) ou Tetrahedron (1998), 54(3/4), 263). Le couplage de l'acide boronique avec un halogénure d'aryle adéquat comme un chlorure d'aryle, le bromure d'aryle, l'iodure d'aryle ou avec un ester d'aryle adéquat comme un mésylate d'aryle ou le trifluorométhanesulfonate d'aryle est préféré. Dans ces cas, la fonction d'acide boronique peut être déjà introduite à la fois dans le benzyle et dans le réactif d'acide benzoïque. Il est également particulièrement préféré d'utiliser bis (pinakolato) diboron comme cela est décrit dans Tetrahedron Lett. (1977), 38 (22), 3841-3844. La formule III décrit cette substance de départ dans laquelle R(1) à R(9) et A et L portent les significations présentées, et X et Y sont chacun halogène ou un –O-SO₂CH₃ ou un –O-SO₂CF₃. Le métal catalytique préféré est le palladium, particulièrement préféré dans son complexe Pd(dppf)₂. La réaction est réalisée dans un solvant aprotique

dipolaire, de préférence le DMF ou le DMA, à une température variant de 0°C et le point d'ébullition du solvant, de préférence à une température variant entre 40°C et 120°C.



- 5 Les dérivés de la formule générale III sont de préférence préparés à partir des dérivés d'acide benzoïque 3-mercapto- ou des dérivés d'acide 3-sulfino-benzoïque de la formule IV avec les dérivés de benzyle activés de la formule V :



- 10 Dans ce cas, Z est un groupe partant disposé à la substitution nucléophile, comme par exemple, le chlore, le brome, l'iode, le mésylate, le tosylate ou le trifluorométhanesulfonate. Les dérivés IV et V entrent en réaction dans un solvant adéquat comme le DMF, THF ou l'acétonitrile, en utilisant une base comme le triéthylamine ou le DIPEA à une température variant entre -20°C et le point d'ébullition du solvant, de préférence à une température variant entre 0°C et 40°C.

CABINET APOCIMA
 50, rue de Valenciennes
 10500 Valenciennes
 Tél. 03 21 41 11 11
 Fax 03 21 41 11 12

Les aroylguanidines I sont généralement des bases faibles et sont capables de lier l'acide pour former des sels. Les sels enrichis en acide sont les sels de tous les acides acceptables au niveau pharmacologique, par exemple les halogénures, notamment les hydrochlorures, les lactates, les sulfates, les citrates, les tartrates, les acétates, les phosphates, les méthylesulfonates, les p-toluènesulfonates.

Les composés I sont des acylguanidines substitués.

Comparé aux composés connus, les composés de l'invention sont distingués par une activité exceptionnellement élevée dans l'inhibition de l'échange Na^+/H^+ .

10 Tout comme les composés connus, ils n'ont pas de propriétés salurifiques indésirables et négatives mais ont au contraire des très bonnes propriétés anti-arythmiques, lesquelles sont très importantes par exemple pour le traitement des troubles liés aux manifestations du déficit d'oxygène. En conséquence à leurs propriétés pharmacologiques, les composés sont remarquablement adéquats en tant que médicaments anti-arythmiques avec un élément
15 cardioprotecteur pour la prophylaxie de l'infarctus et le traitement de l'infarctus, et pour le traitement de l'angine de poitrine. Ils inhibent également ou réduisent considérablement de manière préventive les procédés pathophysiologiques associés au développement de la lésion par l'ischémie, notamment dans l'initiation des arythmies cardiaques provoqués par l'ischémie. En raison de leurs effets protecteurs contre les cas de pathologies hypoxiques et
20 ischémiques, les composés de la présente invention, de la formule I, peuvent être utilisés, comme une conséquence de l'inhibition du mécanisme cellulaire d'échange Na^+/H^+ , comme un médicament pour le traitement de toutes les lésions aiguës ou chroniques provoquées par l'ischémie ou les troubles dus essentiellement ou secondairement à cela. Cela revient à les utiliser en tant que médicament dans les opérations chirurgicales, ex. dans les
25 transplantations d'organes, où les composés peuvent être utilisés pour protéger les organes chez le donneur avant et durant l'enlèvement, pour protéger les organes enlevés par exemple lorsqu'ils sont traités ou lorsqu'ils sont conservés dans des fluides de bain physiologiques, et lors de leur transfert à l'organisme récepteur. Les composés sont tout aussi bien de bons médicaments dotés d'un effet protecteur lorsque les opérations
30 chirurgicales angioplastiques sont réalisées par exemple sur le cœur et au niveau des vaisseaux périphériques. Conformément à leur effet protecteur contre les lésions par ischémie, les composés sont également adéquats en tant que médicaments pour le traitement des ischémies du système nerveux, notamment de la CNS, tout en étant adéquat pour la traitement par exemple de l'attaque cérébrale ou de l'œdème cérébral. En outre, les
35 composés de l'invention de la formule I, sont tout aussi bien adéquats pour le traitement des types de choc comme par exemple le choc allergique, cardiogénique, hypovolémique et bactérien.

En outre, les composés de l'invention de la formule I sont distingués par un fort effet d'inhibition sur la prolifération des cellules, par exemple la prolifération des cellules fibroblastiques et la prolifération des cellules musculaires vasculaires lisses. Les composés de la formule I sont de ce fait adéquats en tant qu'agents thérapeutiques précieux pour les troubles dans lesquels la prolifération des cellules représente une cause principale ou secondaire et peuvent par conséquent être utilisés en tant qu'antiathéroscléroses, comme des agents pour la prévention de complications tardives des diabètes, des cancers, des troubles fibrotiques, comme la fibrose pulmonaire, la fibrose hépatique ou la fibrose rénale, les hypertrophies et les hyperplasies d'organe, notamment l'hyperplasie de la prostate et l'hypertrophie de la prostate.

Les composés de la présente invention sont des inhibiteurs efficaces de l'antiporteur cellulaire sodium – proton (échangeur de Na^+/H^+) qui est, dans plusieurs troubles (hypertension artérielle, athérosclérose, diabètes etc.) également augmenté dans les cellules qui ont la prédisposition à l'électromyographie, comme par exemple, dans les érythrocytes, plaquettes ou leucocytes. Les composés de l'invention sont par conséquent adéquats puisqu'ils constituent des outils scientifiques excellents et simples, par exemple dans leur utilisation en tant qu'aides au diagnostique pour la détermination et la différenciation de formes particulières de l'hypertension, mais également de l'athérosclérose, des diabètes, des troubles de prolifération etc. en outre, les composés de la formule I sont adéquats pour la thérapie préventive pour empêcher le développement de la pression artérielle élevée, par exemple l'hypertension essentielle.

Il a également été découvert que les composés de la formule I ont montré un effet bénéfique sur les lipoprotéines de sérum. Il est généralement reconnu que les niveaux de lipide dans le sang qui sont trop élevés, connus sous le nom de hyperlipoprotéïnémies, représentent un facteur de risque important pour le développement des lésions vasculaires athérosclérotiques, notamment la maladie coronarienne. La baisse des lipoprotéines de sérum élevés a par conséquent une importance particulière pour la prophylaxie et la régression des lésions athérosclérotiques. Outre une réduction dans le cholestérol de sérum total, il est particulièrement important de réduire la proportion des fractions de lipide athérogénique spécifiques de ce cholestérol total, notamment les lipoprotéines à faible densité (LFD) et les lipoprotéines à très faible densité (LTFD), vu que leurs fractions de lipide représente un facteur de risque athérogénique. Par contraste, une fonction protectrice contre la maladie coronarienne est attribuée aux lipoprotéines à forte densité. En conséquence, les hypolipidémiques devraient pouvoir réduire non seulement le cholestérol total, mais aussi et particulièrement, les fractions de cholestérol de sérum de LTFD et LFD. Il a été découvert à présent que les composés de la formule I ont des propriétés précieuses utilisables au niveau thérapeutique en relation avec l'effet des niveaux de lipide de sérum.

Par conséquent, ils réduisent remarquablement le LFD de sérum élevé et la concentration du LTFD qui doivent être respectés par exemple vu la consommation diététique accrue de nourriture riche en cholestérol et en lipide ou en association avec les changements métaboliques pathologiques, par exemple, les hyperlipidémies liée à la génétique. Ils peuvent dès lors être utilisés pour la prophylaxie et la régression des lésions athérosclérotiques par l'élimination d'un facteur de risque causal. Ceci comprend non seulement les hyperlipidémies essentielles mais également certaines hyperlipidémies secondaires comme cela survient par exemple, dans les diabètes. En outre, les composés de la formule I mènent à une réduction marquée des infarctus provoqués par les anomalies métaboliques et, en particulier, une importante réduction de la taille de l'infarctus causé et de sa gravité. Les composés de la formule I mènent en outre à une protection efficace contre les lésions endothéliale provoquées par des anomalies métaboliques. Ladite protection des vaisseaux contre le syndrome du dysfonctionnement endothélial rend les composés de la formule I des médicaments précieux pour la prévention et le traitement des vasospasmes, de l'athérogenèse et de l'athérosclérose, de l'hypertrophie ventriculaire gauche et de la cardiomyopathie dilatée, et des troubles thrombotiques.

Lesdits composés sont par conséquent avantageusement utilisés pour produire un médicament pour le traitement de l'hypercholestérolémie, pour produire un médicament pour la prévention de l'athérogenèse, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement de l'athérosclérose, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des troubles provoqués par des niveaux élevés de cholestérol, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des troubles provoqués par le dysfonctionnement endothélial, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement de l'hypertension provoquée par l'athérosclérose, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des thromboses causées par l'athérosclérose, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des lésions ischémiques et des lésions de reperfusion post-ischémiques causées par l'hypercholestérolémie et provoquée par le dysfonctionnement endothélial, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des hypertrophies cardiaques, des cardiomyopathies et de l'arrêt cardiaque congestif (CHF) causées par l'hypercholestérolémie et par le dysfonctionnement endothélial, pour produire un médicament pour la prévention et le traitement des vasospasmes coronaires et des infarctus du myocarde provoqués par l'hypercholestérolémie et le dysfonctionnement endothélial, pour produire un médicament pour le traitement desdits troubles en combinaison avec les substances hypotensives, de préférence avec les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et les antagonistes récepteurs de l'angiotensine, une combinaison de l'inhibiteur du NHE de la formule I avec un ingrédient actif hypolipidémique, de préférence avec un inhibiteur de réductase HMG-CoA (ex. lovastatin ou pravastatin), le dernier ayant un effet hypolipidémique d'où l'augmentation des

propriétés hypolipidémiques de l'inhibiteur du NHE de la formule I, qui s'est révélé être une combinaison favorable avec l'effet renforcé et l'usage d'un ingrédient actif réduit.

L'administration des inhibiteurs de l'échange sodium / proton de la formule I en tant que nouveaux médicaments pour la réduction des niveaux élevés de lipide sanguin, et la
5 combinaison des inhibiteurs de l'échange sodium / proton par les médicaments hypotensives et/ou les médicaments ayant une activité hypolipidémique sont revendiquées.

Sont également revendiquées, l'administration des inhibiteurs de l'échange sodium / proton de la formule I, et la combinaison des inhibiteurs de l'échange sodium / proton avec les
10 médicaments hypotensifs, notamment avec les inhibiteurs de l'ECA (par exemple le ramipril) et avec les antagonistes récepteurs d'angiotensine (par exemple le losartan) en tant que nouveaux médicaments pour le traitement du ACC.

Les médicaments qui comprennent un composé I peuvent outre cela être administrés par
15 voie orale, parentérale, intraveineuse, rectale ou par inhalation ; l'administration préférée étant déterminée selon l'apparence particulière du trouble. Les composés I peuvent de plus être utilisés seuls ou ensemble avec les excipients pharmaceutiques, aussi bien dans la médecine vétérinaire qu'humaine.

20 Les excipients adéquats pour la formulation pharmaceutique désirée sont connus des experts en la matière sur la base de leur connaissance. Outre les solvants, les formeurs de gel, les bases suppositoires, les excipients comprimés et d'autres porteurs d'ingrédient actif, il est possible d'utiliser pare exemple, les antioxydants, les dispersants, les émulsifiants, les arômes de masquage, les agents de conservation, les agents de solubilité ou les couleurs.

25 Pour une forme à administrer par voie orale, les composés actifs sont mixés avec les additifs adéquats, comme les porteurs, les agents de stabilité ou les diluents inertes, puis convertis par les méthodes classiques en formes de dosage adéquates comme les comprimés, les comprimés enrobés, les capsules composées de deux parties, les solutions aqueuses,
30 alcoolisées ou huilées. Des exemples de porteurs inertes qui peuvent être utilisés sont la gomme arabique, la magnésie, le carbonate de magnésium, le phosphate de potassium, le lactose, le glucose ou l'amidon, notamment l'amidon de maïs. En outre, la préparation peut se faire aussi bien en granules sèches qu'humides. Des exemples de porteurs ou de solvants gras adéquats sont les huiles végétales ou animales comme l'huile de tournesol ou
35 l'huile de foie de poisson.

Pour une administration par voie sous cutanée ou intraveineuse, les composés actifs sont convertis en une solution, suspension ou émulsion, si l'on désire avec les substances

d'usage pour cette fin, comme les agents de solubilité, les émulsifiants ou d'autres excipients. Des exemples de solvants adéquats sont : l'eau, la saline physiologique ou l'alcool, ex. éthanol, propanol, glycérol, soit sous forme de solutions sucrées comme les solutions de glucose ou de mannitol, soit sous forme d'une mixture des différents solvants mentionnés.

Les formulations pharmaceutiques adéquates à l'administration sous forme d'aérosols ou de sprays sont par exemple, les solutions, suspensions ou émulsions de l'ingrédient actif de la formule I dans un solvant acceptable au niveau pharmaceutique comme par exemple, et notamment l'éthanol ou l'eau, ou une mixture de ces solvants. La formulation peut si nécessaire comprendre également d'autres excipients pharmaceutiques comme les surfactants, les émulsifiants, les agents de stabilité, et un gaz propulseur. Une telle préparation contient normalement l'ingrédient actif en une concentration d'environ 0.1 à 10, en particulier d'environ 0.3 à 3% selon le poids.

Le dosage de l'ingrédient actif de la formule I à administrer et la fréquence de l'administration dépend de la puissance et de la durée de l'action des composés utilisés ; de la nature et la gravité du trouble à traiter, et du sexe, âge, poids et de la réaction individuelle du mammifère à traiter.

En moyenne, la dose quotidienne d'un composé de la formule I à administrer à un patient qui pèse environ 75 kg est d'au moins 0.001 mg/kg, de préférence 0.01 mg/kg, jusqu'à un maximum de 10 mg/kg, de préférence jusqu'à un maximum de 1 mg/kg, selon le poids du corps. Pour les phases critiques de la maladie, par exemple, immédiatement après un infarctus du myocarde, il serait peut indispensable d'augmenter les dosages et notamment de les rendre plus fréquents, ex. jusqu'à 4 doses simples par jour. Et plus spécialement, une administration intraveineuse, par exemple, à un patient qui a eu un infarctus et se trouve en réanimation, jusqu'à 200 mg par jour et kg selon le poids du corps peut s'avérer nécessaire.

Liste des abréviations :

DIPEA	diisopropyléthylamine
30 DMA	N,N-diméthylacétamide
DME	1,2-diméthoxyéthane
DMF	N,N-diméthyleformamide
AE	acétate d'éthyle (EtOAc)
eq.	Equivalent
35 MeOH	méthanol
Pd(dppf) ₂	[1,1'-bis (diphénylphosphino) ferrocene] complexe chlorure de palladium (II)/-chlorure de méthylène (1 :1)

TA	température ambiante
p.e.	point d'ébullition
THF	tetrahydrofuran

5 Partie expérimentale

Méthode générale de synthèse du dihydrothiaphenanthrenecarbonylguanidines

Niveau 1) Méthyle 4-bromo -5-chlorosulfonyl -2-méthylebenzoate

10 12 g de 4-bromo -5-chlorosulfonyl -2-acide méthylebenzoïque (J. Med. Chem. 1997, 40, 2017) et 20 ml de chlorure de thionyl ont été mis en ébullition sous reflux exclusion faite de l'humidité pendant 8 heures. Le chlorure de thionyl excédent a été éliminé in vacuo dans un évaporateur rotatif, et le résidu a été saisi dans environ 50 ml de toluène sec puis évaporé de nouveau. Le chlorure acide brut a été dissolu dans 25 ml de toluène anhydre et, après
15 avoir ajouté 1.7 ml de MeOH, il a été remué à 50°C pendant 2 heures. 1.7 ml de MeOH de plus a été ajouté, suivi par le remuement à 50°C pendant 4 heures. La mixture de la réaction a été diluée avec 200 ml d'AE et lavée avec 100 ml de solution aqueuse saturée de NaHCO₃. Après les avoir séché sur Na₂SO₄, les solvants ont été éliminés in vacuo. 11.0 g d'une huile de couleur jaune pâle a été obtenu et a été utilisé sans autre purification.

20

Niveau 2) 2-Bromo -5-méthoxycarbonyl -4-acide méthylebenzènesulfonique

550 mg de Na₂SO₃ a été dissolu dans 2 ml d'eau et, à 70°C, une solution de 337 mg de méthyle 4-bromo -5-chlorosulfonyl -2-méthylebenzoate dans 2 ml de DME a été ajoutée par gouttes. Durant l'ajout par gouttes, la solution est devenue faiblement acide (pH = 5). La
25 mixture a alors été remuée à 70°C pendant 2.5 h, refroidi et ajustée à pH = 1-2 avec une solution aqueuse HCl. Elle a été dissoute avec 50 ml d'AE et lavée avec 50 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl. Après les avoir séché sur Na₂SO₄, les solvants ont été éliminés in vacuo, 228 mg d'une huile de couleur jaune pâle a été obtenu et a été utilisé sans plus de purification.

30

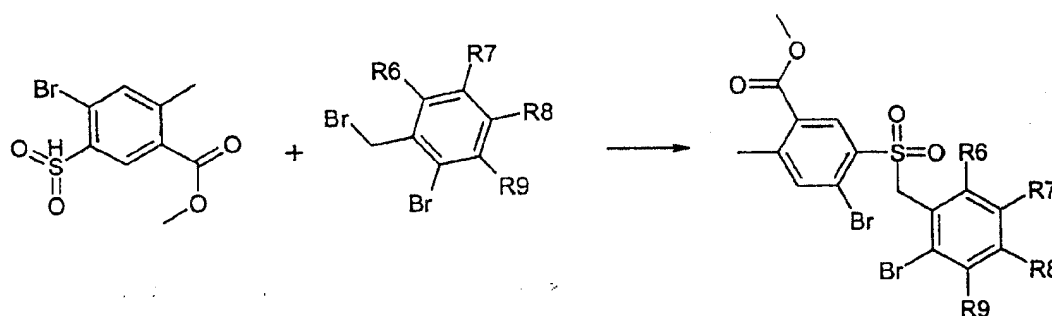
Niveau 3) Méthyle 4-bromo -5-(2-bromophényl)méthanesulfonyl -2-méthylebenzoate

150 mg (0.51 mmol) de 2-Bromo -5-méthoxycarbonyl -4-acide méthylebenzènesulfonique (niveau 2) a été dissolu dans 1.5 ml de DMF. Ce à quoi a été ajouté 128 mg (0.51 mmol) de
35 2-bromure de bromobenzyle dissolu dans 0.5 ml de DMF, et 0.1 ml (0.56 mMol) de DIPEA, et la mixture a été remuée en température ambiante en excluant l'humidité pendant 16 heures. La solution de la réaction a été filtrée, diluée avec 20 ml de AE et lavé avec 20 ml de

1N d'acide chlorhydrique puis 20 ml de saumure à 5% de force. La phase organique a été forcée à travers une cartouche de séchage (sulfate de sodium anhydre), et la cartouche a été lavée avec 5 ml d'AE. Le filtré a été évaporé. Le produit brut a été purifié par HPLC préparatoire.

5

Conformément à l'équation de la réaction générale



Produit du niveau 2

Produit du niveau 3

10 Les produits suivants ont été préparés de manière analogique :

N°	Bromure de benzyle		Produit
2	1-Bromo	-2-(bromométhyle)	Méthyle 4-bromo -5-(1-bromonaphtalène -2-ylméthanesulfonyl) -2-méthylebenzoate
3	2-Bromo	-4-bromure de méthylebenzyle	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -4-méthyle -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate
4	1-Bromo	-2-bromométhyle -4-chlorobenzène	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -5-chloro -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate
5	2-Bromo	-1-bromométhyle -4-fluorobenzène	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -4-fluoro -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate
6	1-Bromo	-2-bromométhyle -3-fluorobenzène	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -6-fluoro -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate
7	2-Bromo	-1-bromométhyle -4-chlorobenzène	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -4-chloro -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate
8	1-Bromo	-2-bromométhyle -4-méthoxybenzène	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -5-méthoxy -phénylméthanesulfonyl)-2-méthylebenzoate

CABINET F. COHEN
 100 rue de la République
 92000 Nanterre
 Téléphone : 01 47 37 10 00
 Fax : 01 47 37 10 01
 E-mail : fcohen@cohen.fr

9	1-Bromo chlorobenzène	-2-bromométhyle	-3-	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -6-chloro -phényleméthanesulfonyl)-2- méthylebenzoate
10	2-Bromo méthylebenzène	-1-bromométhyle	-3-	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -6-méthyle -phényleméthanesulfonyl)-2- méthylebenzoate
11	1-Bromo méthylebenzène	-2-bromométhyle	-4-	Méthyle 4-bromo -5-(2-bromo -5-méthyle -phényleméthanesulfonyl)-2- méthylebenzoate

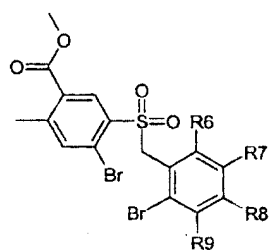
Ces bromures de benzyle employés qu'on ne pouvait pas acheter ont été préparés soit à partir des composés aromatiques de méthyle correspondants par bromination de radical libre avec N-bromosuccinimide ou à partir des alcools de benzyle par la réaction avec HBr aqueux ou le chlorure / triéthylamine de méthanesulfonyl suivie par le bromure de tetrabutylammonium. Les produits bruts ont été remués avec l'acétonitrile / eau = 9 :1 (1 ml), possiblement avec l'ajout de 0.2 ml de DMF, filtré par succion à travers des cartouches et lavés avec l'acétonitrile / eau = 9 :1 (0.5 ml). Les solides précipités ont été séchés dans un four vide à 50°C, et les produits purs étaient >80% selon HPLC/MS. Les liqueurs mères ont été purifiées par HPLC préparatoire vu qu'elles contiennent encore une grande proportion du produit.

Niveau 4) Méthyle 6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate

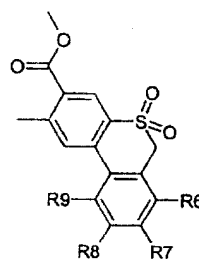
68 mg (0.266 mmol) de bis (pinacolato) diboron, 71 mg (0.725 mmol) d'acétate de potassium et 9 mg (0.012 mmol) de Pd (dppf)₂ ont été ajoutés à 2 ml de DMA. Ce à quoi a été ajouté 112 mg (0.242 mmol) de méthyle 4-bromo -5-(2-bromophényleméthane -sulfonyl) -2-méthylebenzoate (niveau 3) dissolu dans 4 ml de DMA, et la mixture a été remuée à 80°C sous gaz protecteur toute la nuit. La solution de la réaction a été filtrée par le gel de silice et lavé avec 20 ml d'AE. La phase organique a été lavée avec de l'eau et de la saumure à 5% de force, séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporé in vacuo. Le produit brut a été purifié par HPLC préparatoire.

Conformément à l'équation de la réaction générale

CABINET AUCONNAN
 02 97 93 93 93
 10 rue de la République
 92000 Nanterre
 Tél : 01 47 37 00 00



Produit du niveau 3)

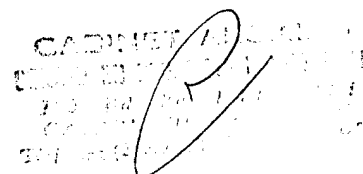


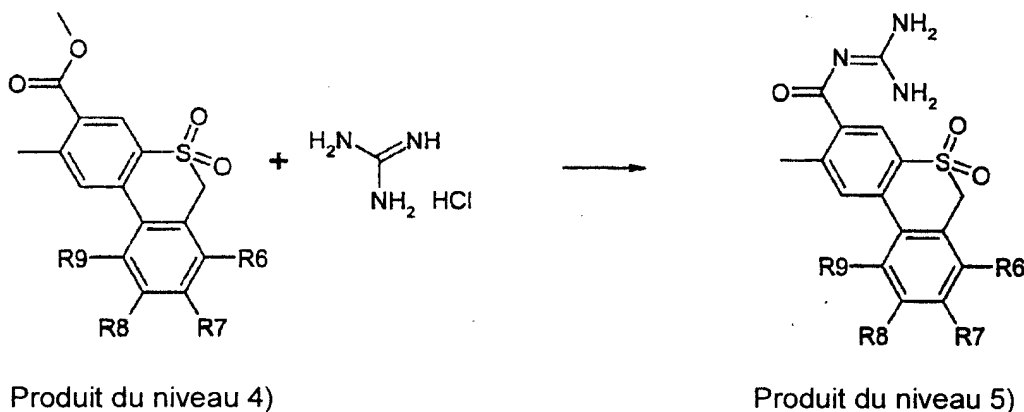
Produit du niveau 4)

5 Les produits suivants ont été préparés de manière analogique :

N°	Produit
2	Méthyle 2-méthyle -5,5-dioxo -5,6-dihydro -5-thiabenzoc [c] phenanthrene -3-carboxylate
3	Méthyle 3,6-diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carboxylate
4	Méthyle 2-chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
5	Méthyle 3-fluoro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
6	Méthyle 1-fluoro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
7	Méthyle 3-chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
8	Méthyle 2-méthoxy -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
9	Méthyle 1-chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
10	Méthyle 4,6-diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate
11	Méthyle 2,6-diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carboxylate

Niveau 5) Dihydrothiaphenanthrenecarbonylguanidines, méthode générale





53 mg (0.5 mmol) de tert.-butoxyde de potassium a été suspendu dans 2 ml de DMF sec. Ce à quoi a été ajouté 50 mg (0.55 mmol) de l'hydrochlorure de guanidine, et la suspension a été remuée à TA en excluant l'humidité pendant 30 min. Puis 0.1 mmol de l'ester de méthyle du niveau 4 dissolu dans 1 ml de DMF a été ajouté, et la mixture a été remuée à TA toute la nuit. Les sels précipités ont été filtrés, et le produit filtré a été immédiatement purifié par HPLC préparatoire (matériel de colonne de Merck Supersphere RP18e, gradient acétonitrile / eau avec 0.1% d'acide formique comme tampon). Les produits obtenus étaient caractérisés par HPLC/MS analytique sur un système Agient séries 1100. La détection du volume a été réalisé par l'ionisation positive.

Méthode A :

- Colonne : Merck LiChroCart 55-2
- 15 Emballage : PuroSpher STAR RP18
- Taux du flux : 0.75 ml/min
- Température : 40°C
- Gradient :
- Solvant A : acétonitrile / eau (90 : 10) + 0.5% d'acide formique
- 20 Solvant B : acétonitrile / eau (10 : 90) + 0.5% d'acide formique

Temps [min]	Solv.B [%]
0.00	95.0
0.50	95.0
1.75	5.0
4.25	5.0
4.50	95.0
5.00	95.0
6.20	STOP

Méthode B :

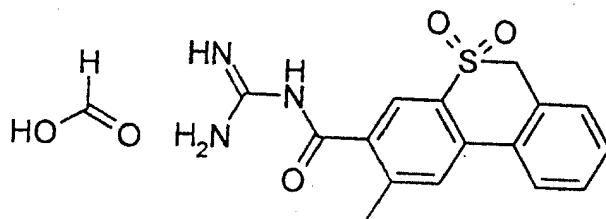
- Colonne : YMC J'Sphere ODS H80
- Emballage : 4 μ
- Taux du flux : 1.0 ml/min
- 5 Température : 30°C
- Gradient :
- Solvant A : / eau + 0.05% d'acide trifluoroacétique
- Solvant B : acétonitrile

Temps [min]	Solv.B [%]
0.00	10.0
2.50	95.0
3.30	95.0
3.35	10.0
3.60	STOP

10

Les composés du titre des exemples 1-11 ont été synthétisés par la méthode générale de la synthèse des dihydrothiaphenanthrenecarbonyleguanidines :

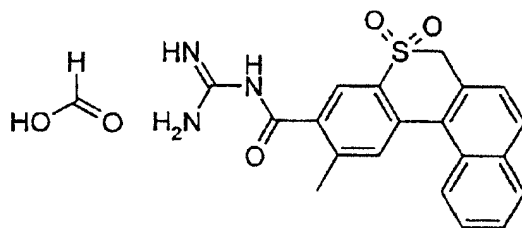
Exemple 1 : N-(6-Méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) –
15 formate de guanidinium



20 MS (ES) : 330 (M+1)⁺ temps de rétention 2.384 min (220 nm, méthode A)

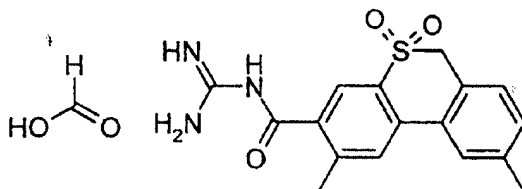
Exemple 2 : N-(2-Méthyle -5,5-dioxo -5,6-dihydro -5-thiabenzoc [c] phenanthrene -3-
25 carbonyle) –formate de guanidinium

Handwritten signature and stamp.



MS (ES) : 380 (M+1)⁺ temps de rétention 1.793 min (220 nm, méthode B)

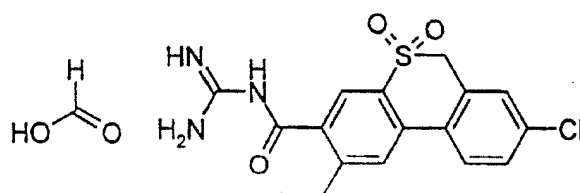
- 5 Exemple 3 : N-(3,6-Diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) – formate de guanidinium



MS () : 344 (M+1)⁺ temps de rétention 2.411 min (220 nm, méthode A)

10

- Exemple 4 : N-(2-Chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) –formate de guanidinium

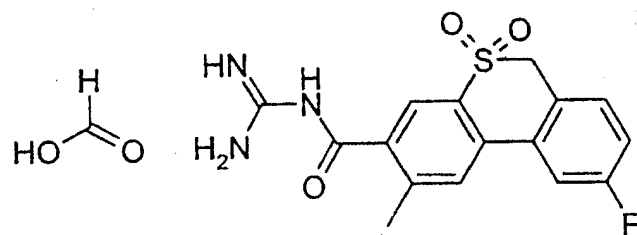


- 15 MS (ES) : 364 (M+1)⁺ Temps de rétention 2.390 min (220 nm, méthode A)

- Exemple 5 : N-(3-Fluoro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) –formate de guanidinium

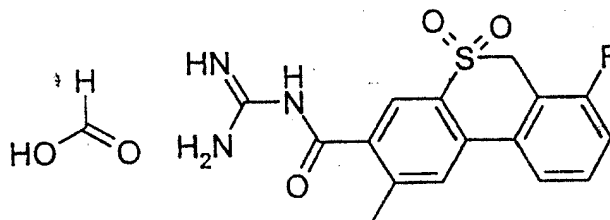
20

CABINET AKOMBA
 DIRECTION DES
 RECHERCHES
 10000
 10000



MS (ES) : 348 (M+1)⁺ temps de rétention 2.215 min (220 nm, méthode A)

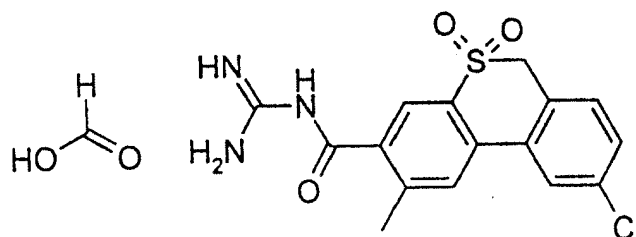
- 5 Exemple 6 : N-(1-Fluoro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carbonyle) –formate de guanidinium



MS (ES) : 348 (M+1)⁺ temps de rétention 2.218 min (220 nm, méthode A)

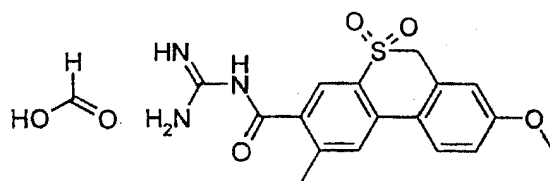
10

- Exemple 7 : N-(3-Chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carbonyle) –formate de guanidinium



- 15 MS (ES) : 364 (M+1)⁺ temps de rétention 2.394 min (220 nm, méthode A)

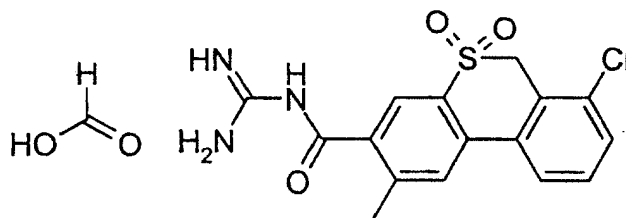
- Exemple 8 : N-(2-Méthoxy -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carbonyle) –formate de guanidinium



MS (ES) : 360 (M+1)⁺ temps de rétention 2.271 min (220 nm, méthode A)

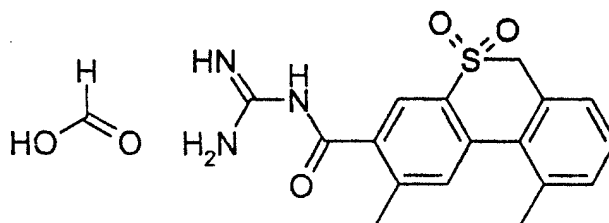
5

Exemple 9 : N-(1-Chloro -6-méthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7-carbonyle) –formate de guanidinium



10 MS (ES) : 364 (M+1)⁺ temps de rétention 2.358 min (220 nm, méthode A)

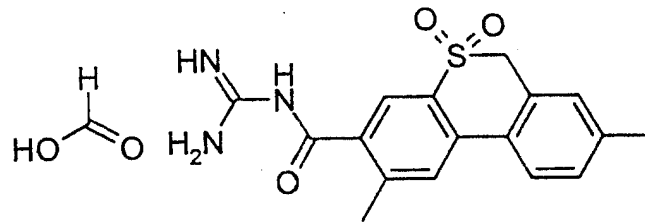
Exemple 10 : N-(4,6-Diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) –formate de guanidinium



MS (ES) : 344 (M+1)⁺ temps de rétention 2.302 min (220 nm, méthode A)

Exemple 11 : N-(2,6-Diméthyle -9,9-dioxo -9,10-dihydro -9-thiaphenanthrene -7- carbonyle) –formate de guanidinium

20



MS (ES) : 344 (M+1)⁺ temps de rétention 2.671 min (220 nm, méthode A)

5

10

15

20

25

30

Méthode de Jansen pour l'inhibition de NHE

La méthode IC₅₀ [nM] d'inhibition de NHE-1 a été déterminée comme suit :

5 Essai de FLIPR pour déterminer les inhibiteurs de NHE-1 en mesurant le rétablissement dans le pH_i dans les lignées des cellules transfectées qui expriment le NHE-1 humain.

10 L'essai a été réalisé dans un FLIPR (lecteur d'imagerie fluorescente) doté de plateaux à micro-titration d'une cage de 96 entouré d'un mur noir ayant des bases claires. Les lignées des cellules transfectées qui expriment les divers sous types de NHE (la lignée de la cellule mère LAP-1 [obtenue du Prof. Pouyssegur, Nice] ne montre aucune activité du NHE endogène comme un résultat de la mutagenèse et de la sélection subséquente) se caractérisent au jour précédent par une densité de ~25 000 cellules/cage. [la croissance moyenne des cellules transfectées (Iscove + 10% de sérum de veau foetal) contient en outre G418 en tant qu'antibiotique de sélection afin de garantir la présence des séquences
15 transfectées.]

L'essai réel commence par l'élimination de la croissance moyenne et l'ajout de 100 µl du tampon de chargement par cage (5 µM BCECF-AM [2',7' -bis (carboxyéthyle) -5- (et-6) -carboxyfluorescein, ester d'acétoxyméthyle] dans 20 mM de NH₄Cl, 115 mM des chlorures de choline, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 5 mM KCl, 20 mM HEPES, 5 mM de glucose ; pH 7.4 [ajusté avec le KOH]). Les cellules sont alors incubées à 37°C pendant 20 minutes. Cette incubation a mené au chargement des cellules avec du colorant fluorescent dont l'intensité de la fluorescence dépend du Phi_i, et avec le NH₄Cl qui rend les cellules légèrement alcaline. [le BCECF-AM précurseur du colorant non fluorescent est, comme l'ester, perméable à la
25 membrane. Le BCECF du colorant réel n'est pas perméable à la membrane mais est libérée à l'intérieur de la cellule par les estérases.]

Après cette incubation qui a duré 20 minutes, le tampon de chargement qui contient le NH₄Cl et le BCECF-AM libre est éliminé en le lavant trois fois dans un laveur de cellules (Tecan Columbus) avec dans chaque cas 400 µl de tampon de lavage (133.8 mM de chlorures de choline, 4.7 mM de KCl, 1.25 mM de MgCl₂, 1.25 mM de CaCl₂, 0.97 mM de K₂HPO₄, 0.23 mM de KH₂PO₄, 5 mM de HEPES, 5 mM de glucose, pH 7.4 [ajusté avec le KOH]). Le volume résiduel restant dans les cages est de 90 µl (50-125 µl possible). Cette
30 étape de lavage élimine le BCECF-AM et débouche, comme une conséquence de l'élimination des ions NH₄⁺ externes, sur l'acidification intracellulaire (~pH_i 6.3 - 6.4).

Puisque l'équilibre du NH₄⁺ intracellulaire avec le NH₃ et le H⁺ est troublé par l'élimination du NH₄⁺ intracellulaire et par le passage instantané subséquent du NH₃ à travers la membrane

cellulaire, le procédé de lavage entraîne le H^+ restant à l'intérieur des cellules, qui est la cause de l'acidification intracellulaire. Ceci peut entraîner éventuellement la mort de la cellule si elle persiste assez longtemps.

- 5 Il est important à ce niveau que le tampon de lavage soit libre de sodium (<1 mM) parce que les ions du sodium intracellulaire entraîneraient un rétablissement instantané du pH_i à travers l'activité des isoformes de NHE clonés.

10 Il est tout aussi important que tous les tampons utilisés (tampon de chargement, tampon de lavage, tampon de rétablissement) ne contiennent aucun ion d' HCO_3^- , parce que la présence de bicarbonate entraînerait l'activation des systèmes interférant de régulation du pH_i qui dépend du bicarbonate présents dans la lignée cellulaire mère LAP-1.

15 Les plateaux à micro-titration avec les cellules acidifiées sont alors (jusqu'à 20 minutes après l'acidification) transférées au FLIPR. Dans le FLIPR, le colorant fluorescent intracellulaire est stimulé par la lumière avec une longueur d'ondes de 488 nm générée par un laser à argon, et les paramètres mesurés (force du laser, temps d'éclairage et ouverture de l'appareil photo CCD incorporée dans le FLIPR) sont choisis de manière à ce que le signal de fluorescence moyenne par cage soit entre 30 000 et 35 000 des unités de
20 fluorescence relative.

L'opération d'électromyographie réelle dans le FLIPR commence par prendre une photo par l'appareil photo CCD toutes les deux en contrôlant le logiciel. Après dix secondes, le rétablissement du pH intracellulaire est initié en ajoutant 90 μ l du tampon de rétablissement
25 (133.8 mM de NaCl, 4.7 mM de KCl, 1.25 mM de $MgCl_2$, 1.25 mM de $CaCl_2$, 0.97 mM de K_2HPO_4 , 0.23 mM de KH_2PO_4 , 10 mM de HEPES, 5 mM de glucose, pH 7.4 [ajusté avec le NaOH]) par une pipette de 96 de profondeur incorporée dans le FLIPR.


30 Les cages de témoins positifs (100% de l'activité du NHE) sont celles auxquelles a été ajouté le tampon de rétablissement pur, alors que les témoins négatifs (0% de l'activité du NHE) ont reçu le tampon de lavage. Le tampon de rétablissement avec une concentration double par rapport à celle de la substance du test est ajouté à toutes les autres cages. L'opération d'électromyographie dans le FLIPR a pris fin après 60 électromyographies (deux minutes).

35

Les données telles que obtenues sont incluses dans le programme de la Base d'Activité. Ce programme commence tout d'abord par calculer les activités du NHE pour chaque

concentration de la substance du test et, à partir de là, calcule les valeurs IC_{50} de ces substances. Etant donné que l'évolution du rétablissement du pH_i n'est pas linéaire à travers l'expérience, mais qu'elle finit par chuter vu la baisse de l'activité du NHE lors de valeurs de pH_i plus élevées, il est important de choisir pour l'évaluation de l'électromyographie la partie 5 dans laquelle l'augmentation de la fluorescence des témoins positifs est linéaire.

Exemple	IC_{50} [nM] de l'Inhibition du NHE-1
1	15.6
2	24.2
3	8.6
4	10.8
5	15.6
6	16.5
7	11.7
8	10.2
9	13.9
10	67.7
11	19.5



10

15

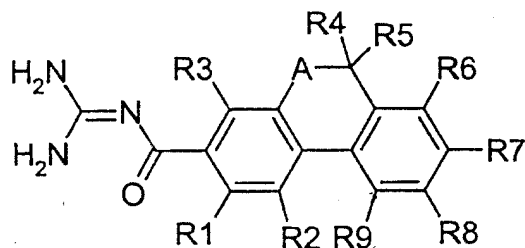
20

25

Les revendications sont comme suit :

1. des dihydrothiaphenanthrenecarbonylguanidies de la formule I
- 2.

5



Dans laquelle les significations se présentent comme suit :

10 R(1) et R(3)

Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, alkoxy ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, F, Cl, Br, I, CN, NR(10)R(11), -Op- (CH₂)_n- (CF₂)_x-CF₃ ou -(SO_m)_p -(CH₂)_n -(CF₂)_x -CF₃ ;

R(10) et R(11)

15 Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ou -(CH₂)_n -(CF₂)_x-CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

n est zéro, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

x et p

20 sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl, Br, I, CN, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, méthoxy, cycloalkyle ayant 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 atomes de carbone,

R(4) et R(5)

25 Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, alkoxy ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, F, Cl, Br, I, CN, NR(12)R(13), -Oq- (CH₂)_r- (CF₂)_s-CF₃ ou -(SO_w)_t -(CH₂)_u -(CF₂)_v -CF₃ ;

30 R(12) et R(13)

Sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

r et u

est zéro, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

q, s, t et v

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

5 ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

Forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

A est -S-, -SO- ou -SO₂-

10 et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

2. Un composé de la formule I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1, dans laquelle les significations sont comme suit :

R(1) et R(3)

15 sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy, F, Cl, CN, NR(10)R(11), -Op-(CH₂)_n-CF₃ ou -(SO_m)_p-(CH₂)_n-CF₃ ;

R(10) et R(11)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂-CF₃ ;

20 m est zéro, 1 ou 2 ;

n est zéro, 1, 2 ou 3 ;

p est indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl, CN, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone, méthoxy, cycloalkyle ayant 3, 4, 5 ou 6 atomes de carbone,

25 R(4) et R(5)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, alkyle ayant 1, 2, 3 ou 4 atomes de carbone ; méthoxy, éthoxy, F, Cl, CN, NR(12)R(13), -Oq-(CH₂)_r-CF₃ ou -(SO_w)_t-(CH₂)_u-CF₃ ;

30

R(12) et R(13)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

r et u

35 sont zéro, 1, 2 ou 3 ;

q et t

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

5 Forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

A est -S-, -SO- ou -SO₂-

et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

3. Un composé de la formule I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 ou 2, dans
10 laquelle les significations sont comme suit :

R(1)

est hydrogène, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy, F, Cl, NR(10)R(11), -Op-(CH₂)_n - CF₃ ou -(SO_m)_p -(CH₂)_n-CF₃ ;

R(10) et R(11)

15 sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂-CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

n, p sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl, méthyle, cycloalkyle ayant 3, 4, 5 ou 6 atomes de carbone,

20 R(3), R(4) et R(5)

sont hydrogène ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ; méthoxy, éthoxy, F, Cl, NR(12)R(13), -Oq-(CH₂)_r -CF₃ ou -(SO_w)_t -(CH₂)_u-CF₃ ;

25 R(12) et R(13)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ou éthyle ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

q, r, t et u

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

30 ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de naphthalène ;

A est -S-, -SO- ou -SO₂-

35 et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

4. Un composé de la formule I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 à 3, dans laquelle les significations sont comme suit :

R(1)

est hydrogène, méthyle, méthoxy, éthoxy, Cl, NR(10)R(11), -O-CH₂-CF₃ ou -(SO_m)_p-
 5 -(CH₂)_n-CF₃ ;

R(10) et R(11)

sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle, éthyle ou -CH₂-
 CF₃ ;

m est zéro, 1 ou 2 ;

10 p est zéro ou 1 ;

R(2) est hydrogène, F, Cl ou méthyle ;

R(3), R(4) et R(5)

sont hydrogène ;

R(6), R(7), R(8) et R(9)

15 sont indépendamment l'un de l'autre hydrogène, méthyle ; méthoxy, éthoxy, F, Cl,
 -O-CH₂-CF₃ ou -(SO_w)_t-(CH₂)_u-CF₃ ;

w est zéro, 1 ou 2 ;

t et u

sont indépendamment l'un de l'autre zéro ou 1 ;

20

ou

R(6) et R(7) ou R(7) et R(8) ou R(8) et R(9)

forment ensemble avec l'anneau de phényle qui les porte un système de
 naphthalène ;

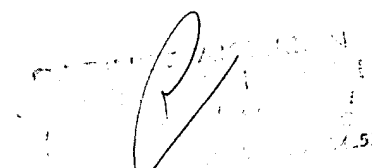
25 A -SO₂-

et leurs sels adéquats au niveau pharmaceutique.

5. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un
 médicament pour le traitement ou la prophylaxie des troubles causées par les états
 30 d'ischémie.

6. Une méthode pour le traitement et la prophylaxie des troubles causés par les états
 d'ischémie, laquelle méthode comprend une quantité efficace d'un composé I tel qu'il est
 revendiqué à la revendication 1, mixée avec les additifs classiques et administrés sous
 35 forme de dosage adéquat.

7. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie de l'infarctus du myocarde et de l'arythmie.
8. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie des angines de la poitrine.
9. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie des états ischémiques du cœur.
10. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie des états ischémiques du système nerveux périphérique et central et de l'attaque cérébrale.
11. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie des états ischémiques des organes et des membres périphériques.
12. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement des états de choc.
13. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament à utiliser pendant les opérations chirurgicales et les transplantations d'organes.
14. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour la conservation et le conditionnement des transplants des procédés chirurgicaux.
15. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement des troubles dans lesquels la prolifération des cellules représente une cause principale ou secondaire.
16. L'utilisation d'un composé I tel qu'il est revendiqué à la revendication 1 pour produire un médicament pour le traitement ou la prophylaxie des troubles du métabolisme lipide.
17. Un médicament qui comprend une quantité efficace d'un composé I tel qu'il est revendiqué dans une ou plusieurs revendications 1 à 4.

A handwritten signature in black ink is written over a circular stamp. The stamp contains some illegible text and a date, possibly '14.57'.