



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets<sup>4</sup> : C07D 471/20, A61K 31/435 // (C07D 471:00, 221:00, 209:00 C07D 209:00)</p>	A1	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 89/05301 (43) Date de publication internationale: 15 juin 1989 (15.06.89)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/BE88/00032 (22) Date de dépôt international: 24 novembre 1988 (24.11.88) (31) Numéro de la demande prioritaire: 8701362 (32) Date de priorité: 30 novembre 1987 (30.11.87) (33) Pays de priorité: BE  (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITÉ DE LIEGE [BE/BE]; 7, place du XX-août, B-4000 Liège (BE).  (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : ANGENOT, Luc [BE/BE]; 34, rue Héna, B-4131 Flemalle (BE). DAMAS, Jacques [BE/BE]; 4/55, place d'Italie, B-4020 Liège (BE). TITS, Monique [BE/BE]; Visé-Voie 143, B-4400 Herstal (BE).</p>	<p>(74) Mandataires: VAN MALDEREN, Michel etc.; Office Van Malderen, 85/042, boulevard de la Sauvenière, B-4000 Liège (BE).  (81) Etats désignés: AT (brevet européen), AU, BE (brevet européen), CH (brevet européen), DE (brevet européen), FR (brevet européen), GB (brevet européen), IT (brevet européen), JP, LU (brevet européen), NL (brevet européen), SE (brevet européen), US.  Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>	

(54) Title: USE OF COMPOUNDS OF THE RETULINE SERIES AS COMPOUNDS WITH PHARMACEUTICAL ACTIVITY, IN PARTICULAR ANALGESIC, ANTISPASMODIC AND ANTIINFLAMMATORY MEDICAMENTS

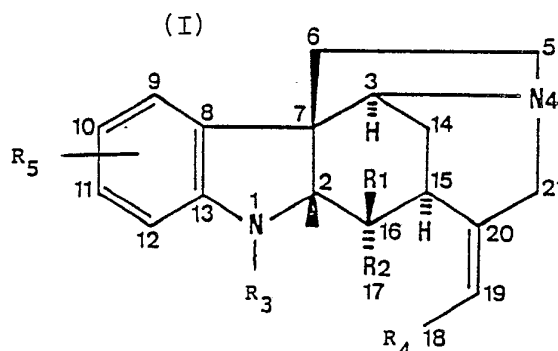
(54) Titre: UTILISATION DE COMPOSES DE LA SERIE DE LA RETULINE ET DE L'ISORETULINE A TITRE DE COMPOSES A ACTIVITE PHARMACEUTIQUE, EN PARTICULIER DE MEDICAMENTS ANALGESIQUES, ANTISPASMODIQUES ET ANTIINFLAMMATOIRES

## (57) Abstract

Compounds with pharmaceutical activity having general formula (I), where in position 16, either R<sub>1</sub> or R<sub>2</sub> is hydrogen, while the substituent R<sub>1</sub> or R<sub>2</sub> which is not hydrogen is -CH<sub>2</sub>OH- or acylated, preferably acylated, -CH<sub>2</sub>OH-, or an aldehyde function; R<sub>3</sub> in position 1 is an alkyl or acyl residue, preferably an acetylated residue, R<sub>4</sub> in position 18 is an alkyl, preferably methyl, chain, a -CH<sub>2</sub>OH- group or an acylated, preferably acetylated, -CH<sub>2</sub>OH- group; R<sub>5</sub> is hydrogen or a substituent on the benzene ring which can be hydroxyl or methoxy. Also described are the substituted compounds on the nitrogen in position 4 and the derivatives in which the C<sub>19</sub>-C<sub>20</sub> double bond is hydrogenated. The compounds have an anti-inflammatory analgesic and antispasmodic effect.

## (57) Abrégé

Composés à effet pharmaceutique répondant à la formule générale (I) dans laquelle en position 16, soit R<sub>1</sub>, soit R<sub>2</sub> doit représenter l'hydrogène tandis que celui des substituants R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> qui ne représente pas l'hydrogène représente -CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé, de préférence acétylé ou une fonction aldéhyde; R<sub>3</sub> en position 1 représente un reste alkyle ou un reste acyle, de préférence un reste acétylé; R<sub>4</sub> en position 18 représente une chaîne alkyle, de préférence méthyle, un groupe -CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé de préférence acétylé; R<sub>5</sub> représente l'hydrogène ou un substituant sur l'anneau benzénique qui peut être hydroxyle ou méthoxy ainsi que les composés substitués sur l'azote en position 4 et les dérivés dans lesquels la double liaison C<sub>19</sub>-C<sub>20</sub> est hydrogénée. Les composés ont un effet antiinflammatoire, un effet analgésique et un effet antispasmodique.



**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	ML	Mali
AU	Australie	GA	Gabon	MR	Mauritanie
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
BE	Belgique	HU	Hongrie	NL	Pays-Bas
BG	Bulgarie	IT	Italie	NO	Norvège
BJ	Bénin	JP	Japon	RO	Roumanie
BR	Brésil	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République Centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	LI	Liechtenstein	SN	Sénégal
CH	Suisse	LK	Sri Lanka	SU	Union soviétique
CM	Cameroun	LU	Luxembourg	TD	Tchad
DE	Allemagne, République fédérale d'	MC	Monaco	TG	Togo
DK	Danemark	MG	Madagascar	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande				

05 UTILISATION DE COMPOSÉS DE LA SÉRIE DE LA RÉTULINE ET DE  
L'ISORÉTULINE À TITRE DE COMPOSÉS À ACTIVITÉ PHARMACEU-  
TIQUE, EN PARTICULIER DE MÉDICAMENTS ANALGÉSIIQUES,  
ANTISPASMODIQUES ET ANTIINFLAMMATOIRES

Objet de l'invention  
-----

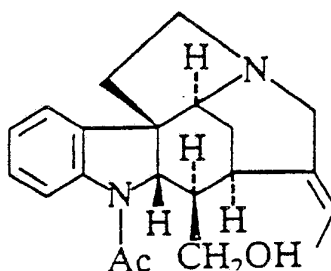
10 La présente invention porte sur l'utilisation pharmacologique de composés de la série de la rétuline et de l'isorétuline en exploitant leurs effets antinociceptifs et antispasmodiques.

15 Résumé de l'art antérieur  
-----

On sait que la rétuline et l'isorétuline constituent des alcaloïdes indoliniques, qui peuvent être extraits de différentes Loganiacées du genre Strychnos, où ils sont présents à la place d'autres alcaloïdes tels que la strychnine, dont la toxicité est bien connue.

20 L'isorétuline (16-épirétuline) est la forme dérivant habituellement de la strychnine dans les voies d'hémisynthèse et répond à la formule

25

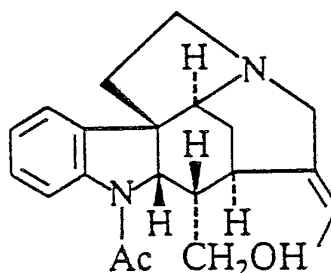


VII

35

tandis que la rétuline correspond à la formule

05



VIII

10

La littérature mentionne plusieurs voies d'hémi-synthèse de ces composés qui ont été mises au point es-sentiellement pour élucider la structure de ces composés et de leurs dérivés.

On peut citer notamment :

E. WENKERT et K. SKLAR, Synthesis of Retuline, J.Org. chem. (1966), 31, pp. 2689-2691, (qui concerne aussi l'isorétuline);

J.R. HYMON et al., Die Chemie des WIELAND-GUMLICH Aldehyds und seine Derivatene, Helv.chim.Acta (1969), 52, pp. 1564-1602;

J.R. HYMON et al., Synthese des Retulins, Helv.chim.Acta. (1966), 49, pp. 2067-2071.

D'autres composés analogues de la série de la ré-tuline et de l'isorétuline ont été également décrits par M. TITS, L. ANGENOT et D. TAVERNIER dans les publica-tions suivantes :

30 Phytochemistry, 1979, Vol. 18, pp. 515-516

Phytochemistry, 1980, Vol. 19, pp. 1531-1534

Tetrahedron Letters, 1980, Vol. 21, pp. 2439-2442

Planta Medica, 1981, Vol. 41, pp. 240-243

Journal of Natural Products, 1983, Vol. 46, No. 5, pp. 630-645

J.Pharm.Belg., 1983, Vol. 38, No. 5, pp. 241-245

Phytochemistry, 1985, Vol. 24, No. 1, pp. 205-207

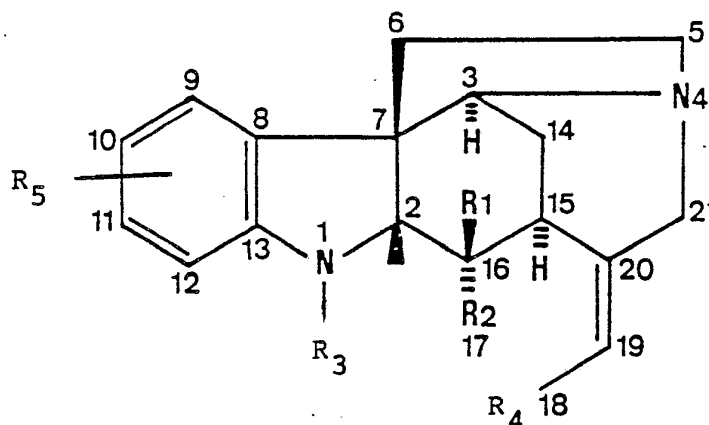
## Principe de l'invention

La présente invention est basée sur l'observation que la rétuline et l'isorétuline ainsi qu'un grand nombre de dérivés de ces composés présentent un effet anti-inflammatoire, un effet analgésique et un effet anti-spasmodique.

On sait qu'il n'existe en fait que peu de types différents de composés anti-inflammatoires non stéroïdiens et que ceux-ci sont parmi les médicaments les plus prescrits. Les composés les plus couramment utilisés comportent tous une fonction acide ou pseudo-acide et une relation de causalité a été établie entre l'usage de ces composés et notamment le risque d'ulcère gastro-intestinal hémorragique.

Des composés à effet antiinflammatoire exerçant peu d'effet secondaires indésirables présentent donc un intérêt considérable.

Selon la présente invention, il est proposé à titre de médicaments des composés selon la formule générale



dans laquelle en position 16, soit R<sub>1</sub>, soit R<sub>2</sub> doit représenter l'hydrogène tandis que celui des substituants R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> qui ne représente pas l'hydrogène représente -CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé, de préférence acétylé ou une fonction aldéhyde;

R<sub>3</sub> en position 1 représente un reste alkyle ou un reste

4

acyle, de préférence un reste acétyle;

R<sub>4</sub> en position 18 représente une chaîne alkyle, de préférence méthyle, un groupe -CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé de préférence acétylé;

05 R<sub>5</sub> représente l'hydrogène ou un substituant sur l'anneau benzénique qui peut être hydroxyle ou méthoxy ainsi que les composés substitués sur l'azote en position 4 et les dérivés dans lesquels la double liaison C<sub>19</sub>-C<sub>20</sub> est hydrogénée.

10 Un grand nombre de ces composés sont connus en tant que tel et leur synthèse a été décrite dans la littérature. Les composés peuvent tous être obtenus facilement par voie d'hémisynthèse au départ de la strychnine ou de dérivés ou d'homologues de la  
15 strychnine.

L'hémisynthèse de l'isorétuline par exemple a été décrite à partir de la strychnine dont les sources naturelles sont abondantes (*S.nux-vomica*, *S.ignatii*, *S.ica-ja*). Le rendement final est d'environ 15% d'isoré-  
20 tuline.

Deux autres alcaloïdes peuvent aussi servir avantageusement à cette hémisynthèse, en ce sens que le nombre réduit d'étapes, permet d'obtenir un meilleur rendement final (40 à 45% d'isorétuline). Il s'agit de la  
25 diaboline (rencontrée initialement dans la *S.diaboli* d'Amérique du Sud) et son dérivé désacétylé, généralement connu sous le nom d'aldéhyde de WIELAND et GUMLICH plutôt que sous la dénomination de caracurine VII qui lui avait été attribué après son extraction à partir de  
30 plusieurs *Strychnos* sud-américains, notamment *S.toxi-fern*, *S.cordata*. Quoique la diaboline et son dérivé aient ensuite été retrouvées dans d'autres espèces américaines et africaines, ces substances ne sont pas disponibles actuellement sur le marché des produits chimi-  
35 ques.

La série rétuline est moins facilement accessible à partir de la strychnine qui possède une configuration

inverse au niveau du carbone en position 16.

Par contre, la rétuline est synthétisée avec un rendement de 50% à partir de l'akuammicine (alcaloïde des graines de *Picralima nitida*) disponible sur le marché mais à des prix sensiblement plus élevés de l'ordre de 200 fois celui de la strychnine.

On peut également obtenir la rétuline et l'isorétuline par transformation des alcaloïdes dimères du type strychnobiline, majoritaires dans les écorces de racines du *S. variabilis* (Kinshasa). Enfin rappelons que la rétuline est présente en quantité appréciable dans les tiges du *S. henningsii* du Zaïre.

A titre d'illustration des voies de synthèse possibles on peut se référer aux Tableau I et II annexés qui indiquent de manière schématique la préparation de l'isorétuline et de la rétuline au départ de la strychnine. Des illustrations spécifiques d'exécution des différentes étapes opératoires seront décrites dans les exemples qui suivent.

On notera que la fonction amido en position 1 de l'isorétuline peut subir une hydrolyse permettant d'obtenir des produits indiqués pour le substituant  $R_3$  ci-dessus.

De même, la fonction  $-CH_2OH$  en position 16 peut être facilement esterifiée ou oxydée en aldéhyde.

Partant du composé V on peut préserver la fonction  $-CH_2OAc$  en position 18, l'hydrolyser en fonction  $-CH_2OH$  ou encore la réduire (comme dans l'isorétuline) en groupe méthyle.

Les techniques classiques de réduction permettent de réduire la fonction éthylidène en position  $C_{19}-C_{20}$ .

De même les atomes d'azote en position 4 et particulièrement en position 1 peuvent être substitués à l'aide de réactifs appropriés.

Au départ de l'aldéhyde de Wieland-Gumlich représenté par la formule III dans le Tableau I, on peut réaliser l'épimère  $\beta$  de l'isorétuline à savoir la

rétuline et réaliser les substitutions ou modifications décrites pour l'isorétuline.

Il convient de noter que les composés comportant le reste formaldéhyde tout en étant pharmacologiquement actifs peuvent présenter une toxicité en particulier une cytotoxicité qui peut rendre leur utilisation thérapeutique peu indiquée. Ils conservent dans ce cas leur intérêt au moins comme produits intermédiaires dans la synthèse.

10

### Propriétés pharmacologiques

---

Les observations les plus intéressantes sont les suivantes :

15 Certains des composés réduisent des oedèmes expérimentaux chez le rat. Ils ne semblent pas inhiber la synthèse des prostaglandines. Les mêmes composés inhibent la stimulation de muscles lisses. Ils s'avèrent de plus inhibiteurs de la stimulation nociceptive chez la 20 souris. Chez cette espèce, l'isorétuline possède un index thérapeutique égal à 15.

### Activité spécifique et toxicité

---

25 a) 1. Toxicité aiguë par voie intra-veineuse chez la souris.

Les alcaloïdes des séries rétuline et isorétuline sont beaucoup moins toxiques que le strychnine dont la LD50 est de 0,5 mg/Kg et que les alcaloïdes diquatérinaires curarisants dont la LD50 est voisine de 50 µg/Kg. 30

L'isorétuline ayant une LD50 de 70 mg/Kg, est cent quarante fois moins toxique que la strychnine. Les autres alcaloïdes testés ont une toxicité voisine; seuls les dimères du type strychnobiline et l'isorétulinal 35 sont un peu plus toxiques (environ 30 mg/Kg), ce qui représente encore une toxicité soixante fois moindre que celle de la strychnine.



## 2. Toxicité par voie orale.

En administration intragastrique chez la souris, l'isorétuline possède une LD50 de 300 mg/Kg. Les animaux ayant reçu des doses inférieures ne présentent aucune  
05 lésion, en particulier au niveau gastro-intestinal.

### b) Effets généraux sur le système nerveux. Action analgésique.

Les expériences réalisés sur la souris par voie  
10 intragastrique à la dose unique de 20 mg/kg montrent que les molécules n'exercent pas, à cette dose, d'effets significatifs sur le temps de sommeil, la curiosité, la motilité et les facultés d'agrippement.

Cependant, l'isorétuline et l'isorétulinal possèdent une activité analgésique non négligeable vis à vis de l'action nociceptive de la phénylparabenzozoquinone. Dans ce test classique de l'activité analgésique, la ED50  
15 de l'isorétuline est de 20 mg/kg). L'isorétuline est donc nettement plus active que l'aspirine (182 mg/kg).

20

### c) Effets sur le système cardiovasculaire.

La rétuline et l'isorétuline en injection intraveineuse chez le rat aux doses de 7 à 49 mg/Kg ne modifient pas la pression artérielle générale.

25

### d) Effets anti-mitotiques (cytotoxicité).

Les activités cytotoxiques potentielles de la rétuline et de ses analogues ont été testées sur différentes souches de milieux de cultures de cellules normales  
30 (souche 2002) ou cancéreuses (mélanôme B<sub>16</sub>, ascite L1210, carcinome HeLa).

Aux doses de 1 et 10 µg d'alcaloïde par ml de culture, aucun effet ne fut décelé pour les alcaloïdes, à l'exception de l'isorétulinal qui exerçait un effet  
35 anti-mitotique faible mais intéressant. C'est ainsi qu'à l'encontre du mélanôme B<sub>16</sub>, l'isorétulinal réduit les mitoses d'un facteur huit à la concentration de 10

$\mu\text{g/ml}$ , et d'un facteur vingt à la concentration de 50  $\mu\text{g/ml}$ . A cette dernière concentration, une nécrose des cellules est cependant manifeste. Nous supposons que l'activité de l'isorétulinal pourrait être due à la  
05 fonction aldéhyde.

e) Action antiinflammatoire.

L'isorétuline inhibe l'oedème à la carragénine chez le rat (ED50 : 40 mg/Kg).

10 Elle réduit également l'oedème au zymosan chez le rat.

La rétuline est également inhibitrice dans ces deux tests.

Par contre, brucine, holstiine, o-acétylisorétuline sont inactives dans les tests précités.  
15

Cet effet antiinflammatoire ne dépend pas de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines : la rétuline et l'isorétuline ne modifient pas l'action hypotensive de l'acide arachidonique chez le rat.

20 Il en résulte que le mécanisme d'action de l'effet antiinflammatoire est tout à fait original.

f) Effet antispasmodique.

L'isorétuline réduit la stimulation de l'iléon de rat par l'histamine et la bradykinine. Les concentrations inhibitrices sont de l'ordre de  $10^{-6}$  à  $10^{-4}$  M.  
25

L'invention sera décrite plus en détail à l'aide d'exemples illustratifs des voies d'hémisynthèse étudiées et d'études des propriétés pharmacologiques.  
30

Les voies de synthèse explorées sont celles schématisées au Tableau I annexé, décrivant l'hémisynthèse de l'isorétuline à partir de la strychnine.

35 Cette hémisynthèse se déroule en six étapes, les deux premières aboutissant à l'aldéhyde de WIELAND-GUM-LICH.

Exemple 1 : PRÉPARATION DE LA 23-ISONITROSOSTRYCHNINE  
(formule II) À PARTIR DE LA STRYCHNINE  
(formule I)

---

05           25 g de strychnine (formule I) sont solubilisées  
dans 150 ml d'éthanol absolu et placés dans un ballon à  
trois tubulures équipé d'un entonnoir, d'un condensa-  
teur à reflux et d'un agitateur. On ajoute, sous agita-  
tion, 45 ml de nitrite d'isoamyle puis goutte à goutte  
10 pendant une heure une solution préparée à l'aide de 6,75  
g de sodium dans 188 ml d'alcool absolu. La température  
du mélange augmente graduellement de 60°C à 90°C et est  
maintenue à 90°C pendant 4 heures. Le mélange est  
élevaporé sous pression réduite à siccité, pour éliminer  
15 l'excès de nitrite d'isoamyle. Au résidu, on ajoute 37  
ml d'eau que l'on évapore à sec et on recommence une  
fois cette opération. Finalement, on ajoute au résidu  
225 ml d'eau, 40 ml d'acide acétique et 1,5 g de charbon  
actif. On filtre et on ajoute à nouveau 1,5 g de  
20 charbon actif au filtrat. Après une nouvelle filtration  
et addition de 18,5 ml d'acide chlorhydrique concentré,  
on maintient le filtrat à 0°C pendant 24 heures. Le  
précipité qui s'y forme est le chlorhydrate de  
23-isonitrosostrychnine (formule II). Le rendement est  
25 de 80%.

Exemple 2 : TRANSFORMATION DE LA 23-ISONITROSOSTRYCHNI-  
NE (formule II) EN ALDEHYDE DE WIELAND-GUM-  
LICH (formule III)

---

30           À 5 g de chlorhydrate de 23-isonitrosostrychnine,  
on ajoute par petites portions, sous agitation pendant 5  
minutes, 75 ml de chlorure de thionyle à la température  
de 0°C. La température est ensuite augmentée jusqu'à  
35 20°C et après 5 heures, le mélange est évaporé à sec. On  
ajoute 50 ml d'éther, on agite le mélange et la solution  
est à nouveau évaporée à sec. Cette opération est répé-

10

tée 3 fois. Finalement, le résidu est solubilisé dans 125 ml d'acide chlorhydrique 1N et chauffé à 100°C pendant 3 heures. Après refroidissement, la solution est alcalinisée par l'ammoniaque et extraite 5 fois avec un égal volume d'éther puis épuisée par le chloroforme à l'aide d'un extracteur liquide/liquide. Les extraits sont rassemblés, évaporés à sec et le résidu est cristallisé dans le benzène : il s'agit de l'aldéhyde de WIELAND-GUMLICH (formule III).

10

### Exemple 3 : RÉDUCTION DE L'ALDÉHYDE DE WIELAND-GUMLICH

---

500 mg du résidu obtenu au stade précédent sont solubilisés dans 25 ml du mélange méthanol : eau/8:2. On y ajoute un excès de borohydrure de sodium et on laisse en contact pendant 1,5 heure sous agitation à température ordinaire. Ensuite, on dilue par 10 ml d'eau et on évapore le méthanol sous pression réduite à l'évaporateur rotatif. Le mélange alcalin est extrait par le chloroforme à l'aide d'un extracteur liquide/liquide pendant 5 heures. La solution chloroformique, séchée sur sulfate de sodium anhydre, est évaporée à sec. Le résidu sec constitue l'aldéhyde de WIELAND-GUMLICH réduit (formule IV).

25

### Exemple 4 : ACÉTYLATION DE L'ALCALOÏDE RÉDUIT OBTENU À L'EXEMPLE PRÉCÉDENT

---

On chauffe à reflux pendant 1,5 heure au bain-marie, une solution composée de l'alcaloïde obtenu à l'exemple 3 (formule IV), de 2 ml d'anhydride acétique et de 5 ml de pyridine. Après ce laps de temps, la solution est évaporée sous pression réduite et additionnée d'éther. La solution étherée du résidu huileux est filtrée sur une courte colonne d'alumine basique Brockmann. On obtient après évaporation de l'éther, l'alcaloïde triacétylé brut sous l'aspect d'une gomme incolore.

re (formule V).

Exemple 5 : HYDROGÉNATION DE L'ALCALOÏDE TRIACÉTYLÉ  
(formule V) : ACÉTYLISORÉTULINE (formule  
05 VI)

---

À environ 300 mg de l'alcaloïde triacétylé obtenu  
à l'exemple 4, on additionne 50 ml d'eau, 30 ml d'acide  
acétique glacial, 0,5 ml d'acide chlorhydrique concentré  
10 et 135 mg de charbon palladié à 10%. On procède ensuite  
à l'hydrogénation sous pression normale et à température  
ordinaire jusqu'à ce que la quantité d'hydrogène néces-  
saire à la formation de la chaîne éthylidénique soit ad-  
sorbée. Le catalyseur est filtré et la solution aqueuse  
15 acide est alcalinisée par l'ammoniaque. La solution al-  
caline est extraite par le chloroforme (4 x 50 ml).  
Après évaporation du chloroforme desséché sur sulfate de  
sodium anhydre, on obtient un résidu d'acétylisorétuline  
(formule VI).

20

Exemple 6 : SAPONIFICATION DE L'ACÉTYLISORÉTULINE (for-  
mule VI) : ISORÉTULINE (formule VII)

---

L'acétylisorétuline est solubilisée dans 10 ml  
25 d'éthanol et cette solution est alcalinisée par de l'hy-  
droxyde de sodium à 10% dans l'eau. On concentre cette  
solution à l'évaporateur rotatif, jusqu'à ce qu'un pré-  
cipité commence à se former puis on extrait le mélange  
par le chloroforme. Les extrais chloroformiques, déshy-  
30 dratés sur sulfate de sodium anhydre, sont évaporés et  
le résidu obtenu est cristallisé dans l'acétate d'éthy-  
le. Il s'agit de l'isorétuline (formule VII).

Les spectres UV et IR des alcaloïdes obtenus lors  
de ces diverses réactions sont conformes aux données de  
35 la littérature. Pour l'alcaloïde obtenu au dernier sta-  
de, l'isorétuline, le spectre de masse indique que l'ion  
moléculaire et la fragmentation sont également confor-

mes.

Des essais complémentaires portant sur la formation de dérivés de la rétuline et de l'isorétuline ont également été effectués.

05

**Exemple 7 : RÉDUCTION DES ALDÉHYDES "RÉTULINAL  $\rightleftharpoons$   
ISORÉTULINAL" : RÉTULINE ET ISORÉTULINE**

---

10 Pour cette réduction, on a opéré de la même façon que l'exemple 3.

50 mg de la paire aldéhydique sont dissous dans 10 ml du mélange méthanol/8:2. À cette solution, on ajoute un excès de borohydrure de sodium. On laisse en contact pendant 1,5 heure à température ordinaire et 15 sous agitation. Après ce laps de temps, le mélange est dilué par de l'eau et le méthanol est évaporé sous pression réduite. La solution alcaline est extraite au chloroforme et les solutions chloroformiques séchées sur le sulfate de sodium anhydre sont distillées sous pression 20 réduite jusqu'à siccité.

Après chromatographie couche mince sur silicagel on observe bien 2 spots correspondants d'une part à la rétuline, d'autre part à l'isorétuline. Sur le spectre IR, on note la disparition 25 de la bande aldéhydique à  $1735\text{ cm}^{-1}$ .

Le même mode opératoire permet de réduire le 16  $\alpha$ -hydroxyisorétulinal en 16  $\alpha$ -hydroxyisorétuline.

**Exemple 8 : DÉSACÉTYLATION DE LA RÉTULINE (OU DE L'ISO-  
RÉTULINE) : DÉSACÉTYLRÉTULINE (OU DÉSACÉ-  
TYLISORÉTULINE)**

---

50 mg de rétuline (ou d'isorétuline) sont dissous dans 50 ml d'acide chlorhydrique N et chauffés pendant 4 35 heures à reflux sous atmosphère d'azote. La solution est alors alcalinisée par la soude 1N jusque pH 11 puis extraite par le chloroforme. Les extraits chloroformiques

13

séchés sur sulfate de sodium anhydre, sont distillés sous pression réduite jusqu'à siccité.

Le résidu chromatographié sur couche mince de silicagel montre la présence d'un seul produit se colorant directement en orangé avec le sulfate cérique et le chlorure ferrique.

Le spectre UV  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) : 212 (4.52), 248 (4.2) et 300 (3.8) nm et le spectre IR où l'on observe la disparition de la bande à 1660  $\text{cm}^{-1}$ , indiquent la présence d'un chromophore N-H indolinique.

Suivant le produit de départ, on forme la désacétylrétuline ou la désacétylisorétuline.

15 Exemple 9 : ACÉTYLATION DE LA DÉSACÉTYLRÉTULINE (OU DE LA DÉSACÉTYLISORÉTULINE) : ACÉTYLRÉTULINE (OU ACÉTYLISORÉTULINE)

---

On a procédé comme à l'exemple 4.

20 25 mg de désacétylrétuline (ou désacétylisorétuline) sont dissous dans 5 ml de pyridine; on y ajoute 2 ml d'anhydride acétique. La solution est chauffée à reflux pendant 1,5 h au bain-marie. On l'évapore ensuite à l'évaporateur rotatif sous pression réduite et on reprend fréquemment le résidu huileux par quelques ml de méthanol pour faciliter l'élimination de la pyridine.

Sur le spectre UV du résidu, on retrouve le chromopore N-acylindolinique et sur le spectre IR les deux bandes caractérisant la fonction ester à  $\tilde{\nu}$  1240 et 1740  $\text{cm}^{-1}$  et la bande amide à  $\tilde{\nu}$  1655  $\text{cm}^{-1}$ .

Dans chaque cas, l'alcaloïde formé n'est pas révélé par le sulfate cérique et devient orangé avec le chlorure ferrique après chauffage de 5 minutes à 35 100°C.

Suivant l'alcaloïde de départ, il se forme l'acétylrétuline (ou l'acétylisorétuline).

Exemple 10 : ACÉTYLATION DE LA RÉTULINE (OU DE L'ISORÉ-  
TULINE) : ACÉTYLRÉTULINE (OU ACÉTYLISORÉ-  
TULINE)

- 
- 05           10 mg de rétuline (ou d'isorétuline) sont dissous  
dans 1 ml de pyridine auquel on ajoute 4 ml d'anhydride  
acétique. Le contact est maintenu pendant 24 heures à la  
température du laboratoire. Ensuite, on évapore la solu-  
tion à l'évaporateur rotatif jusqu'à siccité en repre-  
nant fréquemment le résidu par quelques ml de méthanol,  
10 comme dans le cas précédent, jusqu'à élimination complè-  
te de la pyridine. Enfin, on solubilise le résidu dans  
quelques ml de chloroforme et on lave cette solution par  
quelques ml d'ammoniaque à 2,5 % puis par l'eau. On éva-  
15 pore le chloroforme après l'avoir déshydraté sur le sul-  
fate de sodium anhydre. Le résidu obtenu en partant de  
la rétuline migre au même Rf que celui de l'alcaloïde  
formé à l'exemple 9 à partir de la désacétylrétuline  
(ceci est aussi applicable à la série "iso").
- 20           Dans les deux cas, l'alcaloïde formé ne se colore  
pas avec le sulfate cérique et devient orangé avec le  
chlorure ferrique à 100°C. Les spectres UV et IR sont  
similaires à ceux des alcaloïdes obtenus à l'exemple  
9 . Il s'agit donc de l'acétylrétuline (ou de l'acétyl-  
25 isorétuline).

Exemple 11 : FORMYLATION DE LA DÉSACÉTYLRÉTULINE ET SA-  
PONIFICATION DU PRODUIT OBTENU : Na-FOR-  
MYL-DÉSACÉTYLRÉTULINE

- 30           -----  
0,11 moles d'anhydride acétique et 0,11 moles  
d'acide formique sont chauffés pendant deux heures sous  
agitation à 50°C.

- 35           10 mg de désacétylrétuline sont dissous dans 1 ml  
de pyridine et 3 ml de la solution préparée ci-dessus.  
On abandonne cette solution au moins 48 heures à la tem-  
pérature du laboratoire puis on évapore le mélange à sec



15

comme décrit aux exemples 9 et 10. Le résidu est dissous dans 2 ml d'éthanol auquel on additionne 2 ml d'hydroxyde de sodium à 10% dans l'eau. On concentre la solution sous pression réduite à l'évaporateur rotatif  
05 jusqu'au moment où un précipité commence à se former puis on extrait l'alcaloïde par le chloroforme qui, après déshydratation sur sulfate de sodium anhydre, est évaporé à sec.

Le produit formé ne se colore que très faiblement  
10 à froid avec le sulfate cérique et devient rouge-orangé après chauffage de 5 minutes à 100°C avec le chlorure ferrique.

Sur son spectre UV, on retrouve le chromophore N-acylindolinique et sur son spectre IR, une bande  
15 N-acyle à 1665  $\text{cm}^{-1}$ . Son spectre de masse indique un ion moléculaire à  $m/z$  324 et d'autres fragments caractéristiques du N-formyle, notamment  $m/z$  172.

L'alcaloïde obtenu est la Na-formyl-désacétylrétuline.

20

**Exemple 12 : CONDENSATION DE LA DÉSACÉTYLRÉTULINE (OU DE LA DÉSACÉTYLISORÉTULINE) AVEC LE FORMALDEHYDE : ROSIBILINE (OU ISOROSIBILINE)**

---

25

11 mg de désacétylrétuline (ou de désacétylisorétuline) sont dissous dans 1,5 ml d'acide acétique à 10%. On ajoute 0,1 ml de formol. La solution est maintenue à la température du laboratoire pendant 48 heures. Au bout de ce temps, elle est alcalinisée par l'ammoniaque puis extraite par le chloroforme (3 x 10 ml). La solution chloroformique séchée sur sulfate de sodium anhydre est distillée sous pression réduite jusqu'à siccité. Le résidu chromatographié montre une tache majoritaire se colorant

35

- en rose intense avec le chlorure ferrique et en rouge virant au jaune puis au vert avec le sulfate cérique, lorsque l'alcaloïde de départ est la désacétylisorétu-

line

- en rose avec le chlorure ferrique et en rouge virant à l'orange avec le sulfate cérrique lorsque l'alcaloïde de départ est la désacétylisorétuline.

05            Leur spectre UV indique un chromophore N-H indolinique et leur spectre de masse un ion moléculaire à m/z 308.

              La rosibiline (ou l'isorosibiline) ont donc bien été formée.

10

**Exemple 13 : HYDROLYSE ACIDE DE LA ROSIBILINE (OU DE L'ISOROSIBILINE) : DÉSACÉTYLRÉTULINE (OU DÉSACÉTYLISORÉTULINE)**

---

15

              15 mg de rosibiline (ou d'isorosibiline) sont dissous dans 4 ml d'un mélange méthanol : acide chlorhydrique 2 N/1:1. La solution est maintenue quelques heures à la température de laboratoire puis est alcalinisée jusque pH 11 par l'hydroxyde de sodium à 10%. Elle est  
20 ensuite extraite par le chloroforme (3 x 10 ml) qui est évaporé à sec après passage sur sulfate de sodium anhydre.

              Les produits d'hydrolyse obtenus sont la désacétylrétuline (ou la désacétylisorétuline).

25

**Exemple 14 : HYDROLYSE ACIDE DES ALCALOÏDES BISINDOLIQUES TYPE "STRYCHNOBILINE" : DÉSACÉTYLRÉTULINE ET "RÉTULINAL  $\rightleftharpoons$  ISORÉTULINAL**

---

30

              50 mg d'alcaloïde bisindolique (strychnobiline, isostrychnobiline ou 12' hydroxyisostrychnobiline) sont dissous dans 2 ml d'acide chlorhydrique 2 N. On laisse en contact pendant 15 minutes à la température du laboratoire puis on ajoute 4 ml d'eau. Après 1,5 heure, on  
35 alcalinise par hydroxyde de sodium 2 N jusqu'à pH 11 et on extrait les alcaloïdes par le chloroforme. Les solutions chloroformiques séchées sur sulfate de sodium an-

hydre sont évaporées à sec.

Le résidu est chromatographié sur silicagel dans différentes phases.

Lorsqu'on hydrolyse les alcaloïdes bisindoliques de PM 614 tels la strychnobiline et l'isostrychnobiline, on observe sur les chromatogrammes plusieurs spots dont un se colore en rouge-orangé avec le sulfate cérrique et le chlorure ferrique et correspond à la désacétylrétuline et deux autres ne se colorent pas avec le sulfate cérrique mais deviennent orangés avec le chlorure ferrique après chauffage de 5 minutes à 100°C; ces spots (dont un est plus intense que l'autre) sont identiques à ceux de "l'isorétulinal, rétulinal".

Lorsqu'on hydrolyse les alcaloïdes bisindoliques de PM 630 tels la 12'-hydroxyisostrychnobiline, on observe sur les chromatogrammes, plusieurs spots dont un se colore également en rouge-orangé avec le sulfate cérrique et le chlorure ferrique et correspond aussi à la désacétylrétuline, tandis que les deux autres qui ne sont pas révélés par le sulfate cérrique deviennent brun-violet avec le chlorure ferrique, après chauffage de 5 minutes à 100°C; ces spots correspondent aux alcaloïdes 12-hydroxyisorétulinal et 12-hydroxyrétulinal en équilibre.

Le cycle oxazinique s'ouvre très facilement en milieu chlorhydrique. Pour imiter le milieu physiologique, on a laissé ces alcaloïdes pendant 3 heures à 37°C en milieu HCl 0,1 N et constaté qu'après ce laps de temps, les alcaloïdes bisindoliques asymétriques étaient complètement hydrolysés.

Le tableau II ci-annexé reprend l'hémisynthèse de la rétuline à partir de la strychnine.

Les premières étapes sont identiques à celles de la série "isorétuline" (voir exemples 1 et 2).

Exemple 15 : TRANSFORMATION DE L'ALDÉHYDE DE WIELAND-  
GUMBLICH EN LACTAME HEXACYCLIQUE  
(FORMULE IX)

---

05 3.1 g de W.G.A. et 1.95 g de KCN sont solubilisés  
dans 100 ml d'H<sub>2</sub>O et 1.2 g d'HAc. La solution est agitée  
pendant 6 h à 78°C. Après refroidissement, le mélange  
réactionnel est extrait plusieurs heures par du chloro-  
forme au moyen d'un extracteur liquide/liquide. Les so-  
10 lutions chloroformiques sont maintenues une nuit à 4°C,  
la lactame hexacyclique y précipite.

Exemple 16 : HYDROGÉNATION DE LA LACTAME HEXACYCLIQUE

---

15 On solubilise 1.2 g de lactame hexacyclique dans  
50 ml d'H<sub>2</sub>O, 30 ml d'HAc et 0.5 ml d'HCl conc. On y a-  
joute 300 mg de charbon palladié à 10% et on procède à  
l'hydrogénation sous pression normale et à température  
ordinaire. Le catalyseur est filtré et la solution a-  
20 queuse acide est alcalinisée par l'ammoniaque avant d'ê-  
tre extraite par le chloroforme. Après évaporation du  
solvant desséché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, on obtient le pro-  
duit hydrogéné (formule X).

25 Exemple 17 : RÉDUCTION DE LA FONCTION LACTAME

---

On solubilise 1 g d'alcaloïde obtenu à l'exemple  
16 (formule X) dans 45 ml de tétrahydrofurane. On y ad-  
ditionne 640 mg de LiAlH<sub>4</sub> on laisse en contact 10 minu-  
30 tes à température ordinaire puis on chauffe à reflux le  
mélange pendant 30 minutes. Ensuite, on ajoute sous re-  
froidissement 15 ml d'acétate d'éthyle et on concentre  
cette solution à l'évaporateur rotatif. Enfin, on addi-  
tionne 30 ml d'une solution saturée de tartrate sodico-  
35 potassique et on extrait cette solution aqueuse par du  
chloroforme. Après évaporation du solvant, on obtient le  
produit réduit (formule XI) qui donne une coloration

19

rouge cerise avec  $Ce(SO_4)_2/H_2SO_4$ .

**Exemple 18 : FORMATION DE N-FORMYL-DÉSACÉTYLRÉTULINE  
(FORMULE XII)**

05

À 1 g d'alcaloïde obtenu à l'exemple 17 (fig. XI), on ajoute 15 ml d'HAc à 10%, 975 mg de  $KIO_4$  et 250 ml d' $H_2O$ . On laisse en contact 12 minutes puis on additionne 3 g de  $NaBH_4$  et on abandonne le tout 14 h à 4°C. Enfin, cette solution aqueuse est extraite par le chloroforme. Après évaporation du solvant, on récupère la N-formyl-désacétylrétuline.

De la N-formyl-désacétylrétuline, on passe facilement à la désacétylrétuline par hydrolyse acide (cf. exemple 8) puis à la rétuline (cf. exemple 9).

15

**Exemple 19 : OXYDATION DE L'ISORÉTULINE (OU RÉTULINE)  
EN ISORÉTULINAL  $\rightleftharpoons$  RÉTULINAL)**

20

La réaction d'oxydation de la fonction alcoolique de l'isorétuline présente un double intérêt primordial lors des hémisynthèses, car elle permet d'obtenir des diastéréoisomères en équilibre, isorétulinal et rétulinal, qui autorisent non seulement l'hémisynthèse de nombreux alcaloïdes dimères symétriques ou non, mais également, par réduction, de passer de la série isorétuline à la série rétuline, moins facilement accessible.

50 mg d'isorétuline (ou de rétuline) sont solubilisés dans 2 ml de dichlorométhane. On met en suspension 400 mg de pyridinium chlorochromate (PCC) et 500 mg d'acétate sodique anhydre dans 4 ml de dichlorométhane. On ajoute sous agitation, la solution d'isorétuline et on laisse en contact, toujours sous agitation, pendant trois heures. À la fin de la réaction, on ajoute à la suspension une solution ammoniacale diluée et on extrait l'aldéhyde formé par cinq fois 25 ml de chloroforme. Le rendement est quantitatif.

35

Les propriétés pharmacologiques de l'isorétuline et de la rétuline ont fait objet des observations suivantes.

05 **Exemple 20 : OEDÈME À LA CARRAGÉNINE LAMBDA**

-----

Les substances à tester sont administrées par voie intrapéritonéale une demi-heure avant l'injection de carragénine lambda dans la sole plantaire. Le volume  
10 de la patte est mesuré par pléthysmométrie, avant, puis une, deux, trois et quatre heures après l'injection de carragénine (1 mg/patte).

- Les premiers essais d'orientation ont porté sur l'iso-  
15 rétuline utilisée aux doses de 8, 16, 32 et 64 mg/Kg. Les résultats reprennent l'augmentation du volume de la patte, exprimée en pourcentage du volume normal.

	1 heure	2 heures	4 heures
20 Témoin	24.8 ± 2.7	52.3 ± 5	78.1 + 5.9 (8)
8 mg/Kg	20.2 ± 6.5	56.6 ± 7.3	82.4 + 8.3 (5)
16 mg/Kg	16 ± 2.3	36 ± 6.2	68 + 7.9 (5)
32 mg/Kg	19.7 ± 4.1	35.2 ± 6.1	57.7 ± 5.7 (8)
64 mg/Kg	12.4 ± 1.4	33 ± 3.4	69.6 ± 6.9 (6)

25

L'isorétuline est nettement inhibitrice à partir de 32 mg/Kg, elle n'est pas active à 8 mg/Kg et l'effet est moindre après 4 heures pour la dose, de 16 mg/Kg.

30 - Essais avec la rétuline.

	1 heure	2 heures	4 heures
Témoin	24.2 = 3	68.8 + 7	93.2 + 4.9 (5)
45 mg/Kg	30.4 + 11.6	51.2 + 11.5	63.2 + 6.1 (5)

35

La rétuline est active pour 45 mg/Kg. Son activité est proche de celle de l'isorétuline (après deux heu-

res).

Deux essais supplémentaires ont été effectués en injectant la rétuline et d'isorétuline aux doses de 50  $\mu$ g et 250  $\mu$ g dans la patte, en même temps que la carragénine. À ces doses, ces deux substances ne modifient pas l'oedème et elles n'agissent donc pas par un effet contre-irritant.

- Essais avec d'autres substances proches.

10

Les résultats reprennent l'augmentation du volume de la patte exprimée en pourcentage de l'accroissement mesuré chez les animaux témoins après 4 heures.

15	Isorétuline	32 mg/Kg	74	+	7.3%; p < 0.05
		40 mg/Kg	65	+	8.4%; p < 0.05
	Rétuline	45 mg/Kg	68	+	6.5%; p < 0.01
	O-acétylisorétuline	25 mg/Kg	114	+	4.5%
		50 mg/Kg	90.3	+	16.4%
20	Holstine	25 mg/Kg	90	+	4.6%
		50 mg/Kg	105	+	9.2%
	Brucine	50 mg/Kg	98.7	+	7%
		100 mg/Kg	60% des animaux meurent en convulsions.		

25

Seuls de la série citée, le rétuline et l'isorétuline présentent une activité anti-inflammatoire.

L'oedème à la carragénine dépend de l'intervention des kinines et des leucocytes avec leurs facteurs pro-inflammatoires dont les prostaglandines (PG). Cet oedème est inhibé par l'aspirine et l'indométhacine.

#### Exemple 21 : OEDÈME AU ZYMOSAN

35 On a étudié ensuite l'effet de l'isorétuline sur l'oedème au zymosan. Celui-ci se développe très rapidement grâce à la libération immédiate des amines mastocytai-

22

res. Pour minimiser cette influence, tous les rats sont traités par mépyramine et méthysergide une demi-heure avant l'injection de zymosan (1 mg/patte). L'isorétuline a été administrée par voie intrapéritonéale (40 mg/Kg) en même temps que les anti-amines.

	1 heure	3 heures	5 heures
Témoins	28.3 + 2.9	44.8 + 5.7	47.8 + 6.9
40 mg/Kg	12.5 + 2.8	29.3 + 3.8	34.4 + 4.6

10

L'isorétuline par voie intrapéritonéale exerce un effet inhibiteur statistiquement significatif sur l'œdème au zymosan dans sa phase précoce. Cet œdème dépend de l'intervention du complément avec mise en jeu des amines mastocytaires (cette participation est réduite dans nos conditions expérimentales) et de la stimulation des polynucléaires. Cet œdème est inhibé par l'aspirine et l'indométhacine surtout lorsque les effets des amines mastocytaires a été supprimé.

Ces résultats indiquent que dans ces deux modèles de réaction inflammatoire la rétuline et l'isorétuline possèdent un pouvoir anti-inflammatoire.

#### Exemple 22 : ACTION HYPOTENSIVE DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE

25

L'action hypotensive de l'acide arachidonique dépend de sa conversion en substances de type PG, la PGI<sub>2</sub> principalement. Elle est donc un témoin d'une synthèse de PG se réalisant dans le système cardiovasculaire de rat et est supprimée par tous les inhibiteurs de la formation des PG, dont l'aspirine et l'indométhacine. La rétuline a été utilisée à des doses allant de 40 à 49 mg/Kg. Elle ne modifie pas l'action de l'acide arachidonique chez les 6 animaux testés. Elle ne peut donc pas se ranger dans les inhibiteurs de la synthèse des PG.

35

De plus, les résultats montrent que cette sub-



23

stance n'a par elle-même aucun effet vasomoteur. Son action anti-inflammatoire ne peut donc s'expliquer par un collapsus cardiovasculaire qui compromettrait les échanges au niveau capillaire.

05

**Exemple 23 : EFFET ANTISPASMODIQUE : INHIBITION DE L'ACTION MYOSTIMULANTE DE L'HISTAMINE ET DE LA BRADYKININE SUR L'ILÉON DE COBAYE**

-----

10

Des lambeaux d'iléon de Cobaye sont superfusés en série par du liquide de Tyrode additionné ou non d'isorétuline. Celle-ci, à partir de  $10^{-6}$  M ( $0.4 \mu\text{g/ml}$ ) réduit l'action myostimulante de l'histamine sur l'iléon. Cet antagonisme est de type non compétitif : la courbe

15 dose-réponse à l'histamine est déplacée vers la droite mais n'atteint plus la réponse maximale, l'effet antispasmodique s'accroît avec les augmentations de la concentration en isorétuline ( $10^{-6}$  à  $10^{-4}$  M soit de  $0.4$  à  $35 \mu\text{g/ml}$ ). Pour la concentration, la plus élevée, la réponse

20 à l'histamine est réduite de 20 fois et la réponse maximale n'atteint plus que 50% de la réponse maximale initiale. Cet antagonisme est non spécifique puisqu'il s'exerce également vis-à-vis de l'effet myostimulant de la bradykinine. La O-acétylisorétuline ( $10^{-6}$  et  $10^{-5}$  M)

25 est dans ce test inactive.

30

Cet effet antispasmodique de l'isorétuline rapproche cette substance de la papavérine. Néanmoins l'isorétuline est dépourvue de l'effet vasodilatateur de la papavérine.

30

**Indications thérapeutiques**

-----

On peut conclure des exemples qui précèdent que le produit possède des propriétés remarquables lui conférant un large spectre d'applications.

35

Les indications thérapeutiques suivantes peuvent tout particulièrement être retenues.

- Douleurs aiguës et chroniques de toute origine, en particulier
  - a) douleurs d'origine spastique au niveau du tractus gastro-intestinal, des voies biliaires, et du système uro-génital, dysménorrhées d'origine spasmodique, crampes utérines, coliques néphrétiques, coliques biliaires et colites spasmodiques
  - b) rhumatismes inflammatoires et affections péri-articulaires, bursites, synovites, tendinites, ténosynovites, goutte, affections musculo-squelettiques, arthrose
- Traitement des oedèmes inflammatoires de toute origine, atteignant les tissus mous.

15 Les résultats obtenus chez l'animal suggèrent que les doses utiles à administrer chez l'homme par voie orale sont de l'ordre de 25 à 50 mg par prise, de préférence à raison de 1 à 3 prises par jour.

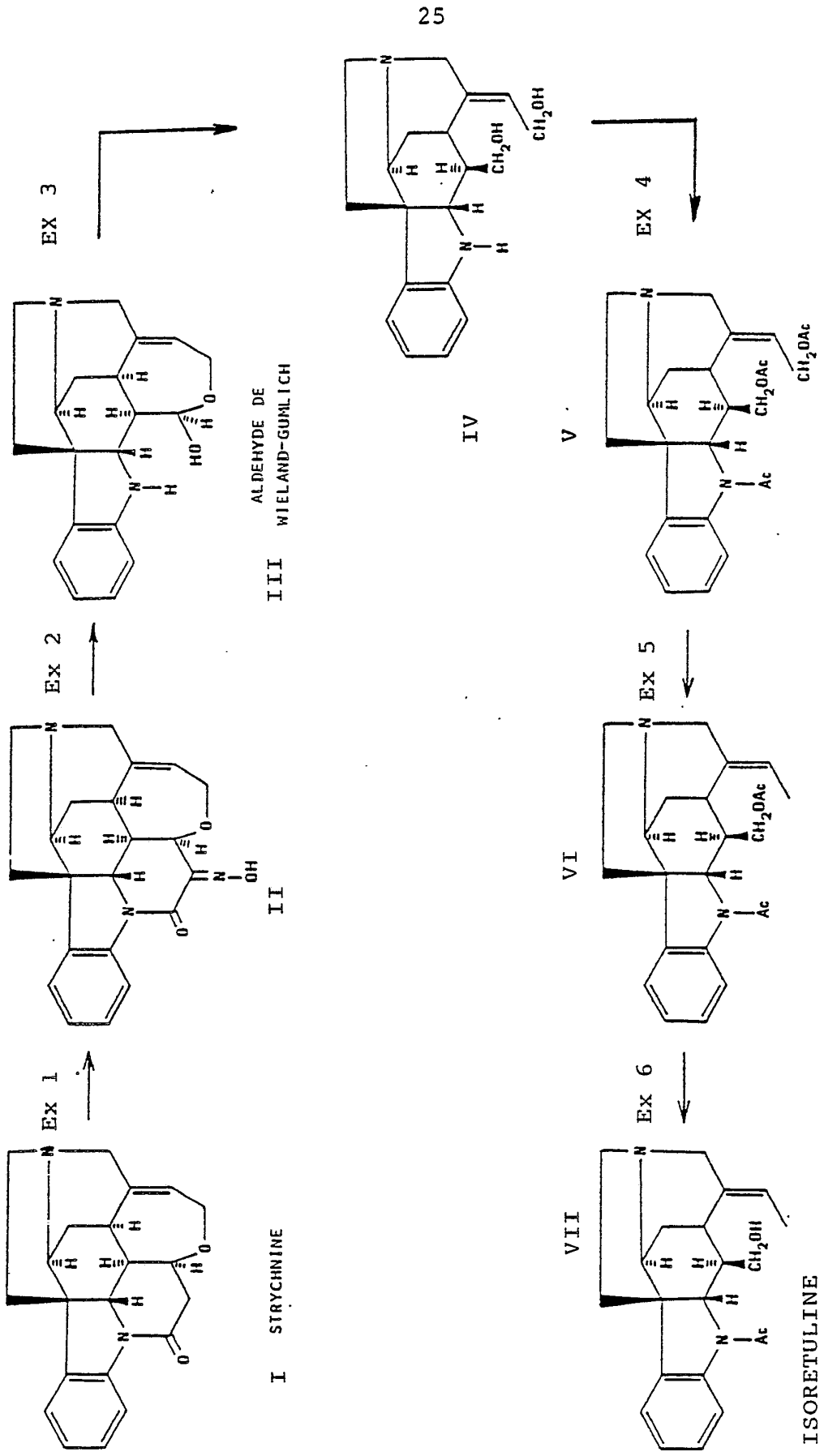


Tableau I Hémisynthèse de l'isorétuline à partir de la strychnine

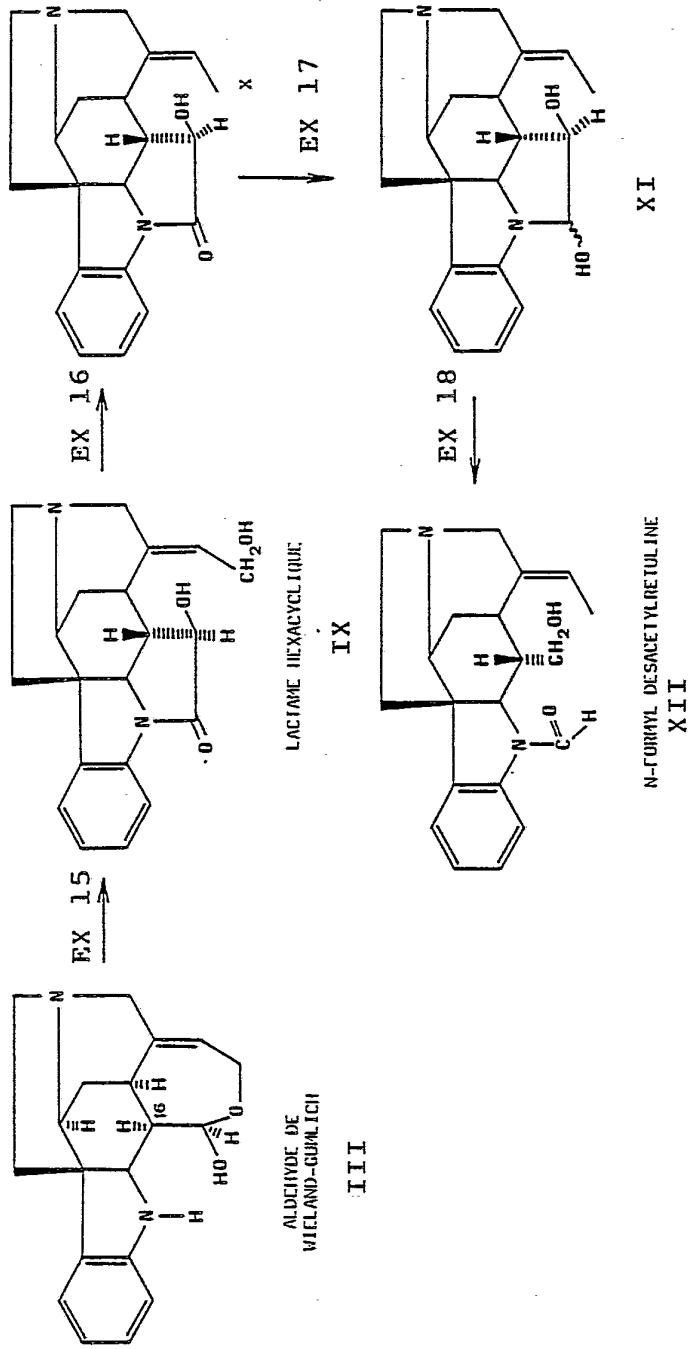
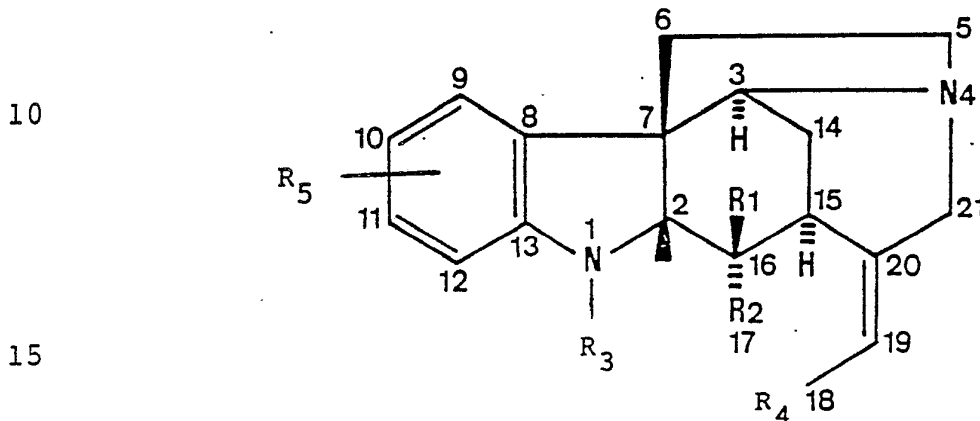


Tableau II Hémissynthèse des alcoïdes de série rétuline à partir de W.G.A.

RE V E N D I C A T I O N S

05 1. À titre de composés à effet pharmaceutique les  
composés selon la formule générale



20 dans laquelle en position 16, soit R<sub>1</sub>, soit R<sub>2</sub> doit re-  
présenter l'hydrogène tandis que celui des substituants  
R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> qui ne représente pas l'hydrogène représente  
-CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé, de préférence acétylé ou une  
fonction aldéhyde;

25 R<sub>3</sub> en position 1 représente un reste alkyle ou un reste  
acyle, de préférence un reste acétylé;

R<sub>4</sub> en position 18 représente une chaîne alkyle, de pré-  
férence méthyle, un groupe -CH<sub>2</sub>OH- ou -CH<sub>2</sub>OH acylé de  
préférence acétylé;

30 R<sub>5</sub> représente l'hydrogène ou un substituant sur l'anneau  
benzénique qui peut être hydroxyle ou méthoxy ainsi que  
les composés substitués sur l'azote en position 4 et les  
dérivés dans lesquels la double liaison C<sub>19</sub>-C<sub>20</sub> est  
hydrogénée.

35 2. Procédé pour l'obtention des composés selon la  
revendication 1 caractérisé en ce qu'ils sont extraits  
de Loganiacées du genre Strychnos et soumis, le cas

échéant à différentes modifications ou substitutions ou sont obtenus par voie d'hémisynthèse au départ de la strychnine ou de dérivés ou d'homologues de la strychnine.

3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce qu'il comporte une réaction d'oxydation de la fonction alcoolique de l'isorétuline ou de la rétuline en formant des diastéréoisomères en équilibre, isorétulinal et rétulinal, en vue de l'hémisynthèse d'alcaloïdes dimères symétriques ou non, ou en vue, par réduction, de passer de la série isorétuline à la série rétuline ou inversement.

4. Compositions pharmaceutiques caractérisées en ce qu'elles contiennent une dose active d'un composé selon la revendication 1 ou obtenu par le procédé de la revendication 2 ou 3.

5. Compositions pharmaceutiques selon la revendication 4 pour les indications suivantes :

- douleurs aiguës et chroniques de toute origine, en particulier
  - a) douleurs d'origine spastique au niveau du tractus gastro-intestinal, des voies biliaires, et du système uro-génital, dysménorrhées d'origine spasmodique, crampes utérines, coliques néphrétiques, coliques biliaires et colites spasmodiques
  - b) rhumatismes inflammatoires et affections péri-articulaires, bursites, synovites, tendinites, ténosynovites, goutte, affections musculo-squelettiques, arthrose; et
- traitement des oedèmes inflammatoires de toute origine, atteignant les tissus mous.

6. Compositions pharmaceutiques selon la revendication 4 ou 5 caractérisées en ce qu'elles sont prépa-

rées de manière à administrer chez l'homme par voie orale des doses de l'ordre de 25 à 50 mg par prise, de préférence à raison de 1 à 3 prises par jour.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

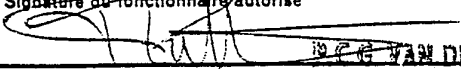
International Application No PCT/BE 88/00032

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (if several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC C 07 D 471/20; Int. Cl. <sup>4</sup> A 61 K 31/435; // (C 07 D 471/00, 221:00, 209:00, 209:00)		
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. <sup>4</sup>	C 07 D 471/00	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b>		
Category <sup>*</sup>	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
A	Chemical Abstracts, volume 76, 1972, (Columbus, Ohio, US), M.B. Sultanov: "Results and aspects of a pharma- cological study of indole alkaloids from plants of the genus Vinca", see page 11, abstract 111f, & Aktual. Probl. Farmakol. Farm., Vses. Nauch. Konf. 1971, 159-68	1
A	Chemical Abstracts, volume 78, 1973 (Columbus, Ohio, US), A.G. Kurmukov et al.: "Effect of vincanidine on the central nervous system", see page 20, abstract 119187s, & Farmakol. Alkaloidov Serdechnykh Glikozidov, 1971, 27-9	1
<p><sup>*</sup> Special categories of cited documents: <sup>10</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
9 February 1989 (09.02.89)		3 March 1989 (03.03.89)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
European Patent Office		



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/BE 88/00032

<b>I. CLASSEMENT DE L'INVENTION</b> (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>7</sup>		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
CIB <sup>4</sup> : C 07 D 471/20; A 61 K 31/435; //(C 07 D 471/00, 221:00, 209:00, 209:00)		
<b>II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ</b>		
Documentation minimale consultée <sup>8</sup>		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB <sup>4</sup>	C 07 D 471/00	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté <sup>9</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b> <sup>10</sup>		
Catégorie *	Identification des documents cités, <sup>11</sup> avec indication, si nécessaire, des passages pertinents <sup>12</sup>	N° des revendications visées <sup>13</sup>
A	Chemical Abstracts, volume 76, 1972, (Columbus, Ohio, US), M.B. Sultanov: "Results and aspects of a pharmacological study of indole alkaloids from plants of the genus Vinca", voir page 11, abrégé 111f, & Aktual. Probl. Farmakol. Farm., Vses. Nauch. Konf. 1971, 159-68 --	1
A	Chemical Abstracts, volume 78, 1973 (Columbus, Ohio, US), A.G. Kurmukov et al.: "Effect of vincanidine on the central nervous system", voir page 20, abrégé 119187s, & Farmakol. Alkaloidov Serdechnykh Glikozidov, 1971, 27-9  -----	1
<p>* Catégories spéciales de documents cités: <sup>11</sup></p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« &amp; » document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
9 février 1989	03 MAR 1989	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	 P. G. VAN DER PUTTEN	