

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR,
DE LA RECHERCHE ET DE
L'INNOVATION TECHNOLOGIQUE



FACULTE DE PHARMACIE

THESE

Année : 1996 - 1997

N° 286/97

Présentée en vue de l'obtention du

**DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE**

par

OUATTARA MAHAMA

*Synthèse et Etude Pharmacologique d'une Nouvelle
Dithiole-Thione à Vecteur Benzimidazolique,
Analogue de l'Oltipraz*

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 04 JUILLET 1997

JURY :

<i>Président :</i>	Monsieur KONE Moussa, Professeur
<i>Directeur de thèse :</i>	Monsieur OUATTARA Lassina, Professeur
<i>Assesseurs :</i>	Monsieur KABLAN Brou J, Maître de Conférence Agrégé
	Monsieur TEA Gokou C., Maître de Conférence

SOMMAIRE

	pages
INTRODUCTION.....	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	3
<u>I - LES DITHIOLE-THIONES.....</u>	3
<u>I - 1 Définition.....</u>	<u>3</u>
<u>I - 2 Procédés d'obtention.....</u>	<u>3</u>
I - 2-1 L'action du soufre avec les composés éthyléniques	4
I - 2-1-1 A partir des terpènes acycliques.....	4
I - 2-1-2 A partir des aryl-propènes et aryl-propynes	5
I - 2-2 L'action du soufre et du pentasulfure de phosphore avec les composés carbonylés.....	6
I - 2-2-1 A partir des cétones aliphatiques ou aromatiques	6
I - 2-2-2 A partir des aldéhydes β -cétoniques.....	6
I - 2-2-3 A partir des cétones α -halogénées.....	8
I - 2-2-4 A partir des esters aromatiques orthosulfydrilés ou des esters β -thiocétoniques.....	9
I - 2-3 L'action du pentasulfure de phosphore avec les esters β -cétoniques ou encore avec les dérivés dimercapto-3,3 propène-2 ones-1.....	10
I - 2-3-1 A partir des esters β -cétoniques.....	10
I - 2-3-2 A partir des dimercapto-3,3 propène-2 ones-1	10
<u>I - 3 Réactivité chimique.....</u>	<u>12</u>
I - 3-1 Réactivité due au groupement fonctionnel thione.....	12
I - 3-1-1 Les réactions de condensation crotoniques	12
I - 3-1-2 L'oxydation ménagée.....	13
I - 3-1-3 La réaction d'halogénéation.....	13
I - 3-1-4 La réaction dipolaire.....	14

I - 3-2 réactivité due à la fragilité des liaisons 1,5 et 4,5.....	15
I - 3-3 réactivité due au pont disulfure -1,2.....	16
I - 3-4 Réactivité due au groupe méthyle fixé en position 5.....	16
<u>II - L'OLTIPRAZ</u>	18
<u>II - 1 Chimie</u>	18
<u>II - 2 Propriétés pharmacologiques et mode d'action</u>	19
II - 2-1 Propriétés pharmacologiques.....	19
II - 2-2 Mécanisme d'action.....	19
<u>II - 3 Propriétés pharmacocinétiques</u>	23
<u>II - 4 Aspects thérapeutiques</u>	23
ETUDE CHIMIQUE	25
<u>I - PARTIE THEORIQUE</u>	25
Avant propos.....	25
<u>I - 1 L'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole</u>	26
<u>I - 2 L'acétyl-2 benzimidazole</u>	26
<u>I - 3 L'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole</u>	27
<u>I - 4 La bithiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1</u>	28
<u>I - 5 La (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3</u>	29

<u>II - PARTIE EXPERIMENTALE</u>	31
Remarques générales.....	31
<u>II - 1 Préparation de l'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole</u>	32
<u>II - 2 Préparation de l'acétyl-2 benzimidazole</u>	32
<u>II - 3 Préparation de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole</u>	33
<u>II - 4 Préparation de la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1</u>	35
<u>II - 5 Préparation de la (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3</u>	36
ETUDE PHARMACOLOGIQUE ET RELATION STRUCTURE-ACTIVITE	38
Avant propos.....	38
<u>I - ETUDE TOXICOLOGIQUE</u>	39
<u>II - AVALUATION DE L 'ACTIVITE SCHISTOSOMICIDE</u>	39
<u>II - 1 Principe</u>	39
<u>II - 2 Protocole expérimental</u>	40
<u>III – RESULTATS ET INTERPRETATION</u>	41
III – 1 Concernant l'évaluation de la toxicité du produit <u>V</u>	41
III – 2 Concernant l'évaluation de l'activité schistosomicide potentielle du produit <u>V</u>	41
<u>IV - RELATION STRUCTURE-ACTIVITE</u>	44
CONCLUSION	46
BIBLIOGRAPHIE	47

INTRODUCTION

L'intérêt porté au cours de ces dernières années aux molécules médicamenteuses possédant la structure de type « dithiole-thione » a particulièrement retenu notre attention.

En effet, après la mise au point, à partir des années 1950, d'un certain nombre de composés chimiques de synthèse à entité dithiole-thione (1, 2, 3, 4), d'intenses activités de recherche pharmacologique vont rapidement donner lieu à l'émergence dès les années 1980 d'une nouvelle classe de molécules médicamenteuses douées de propriétés antibilharzienne (5 à 12), voir antimitotique (13 à 20) et antivirale (21, 22) en raison de leur mécanisme d'action original (23, 24, 25).

Parmi ces molécules nouvelles, la (Méthyl-4 pyrazinyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 ou OLTIPRAZ se révèle la plus en vue [Figure 1].

Dès lors, les études de Relations structure - activité entreprises en série des dithiole-thiones médicamenteuses permettent d'établir à l'heure actuelle et selon les données de la littérature (5, 24, 26, 27, 28), que la présence d'un hétérocycle fixé en position 5 sur la dithiole-thione confère l'activité antibilharzienne.

Une telle hypothèse est confirmée effectivement par certains auteurs (23, 29, 30) qui rapportent l'activité antibilharzienne d'un analogue structural de l'OLTIPRAZ résultant du remplacement de l'hétérocycle pyrazinique en position 5 par un vinylogue pyridinique en cette position. [Figure 2].

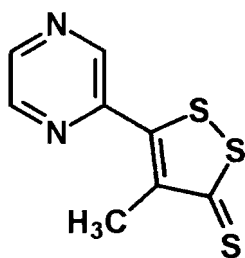


FIGURE 1

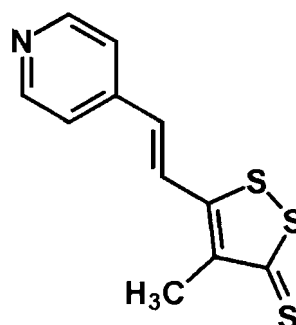


FIGURE 2

Au vu de tels résultats encourageants et dans le cadre d'un programme défini d'activités de recherche sur de nouveaux antiparasitaires actifs en zone africaine, A. KASSI et L. OUATTARA (31) ont entrepris au cours d'un précédent travail, la préparation d'un nouveau dérivé de la dithiole-thione à support benzimidazolique en l'occurrence la (Méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 [Figure 3] non encore décrite.

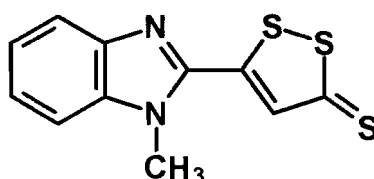


FIGURE 3

Toutefois, les faibles rendements de produits obtenus n'ont guère permis aux auteurs de réaliser une étude pharmacologique.

Aussi nous nous sommes proposés pour notre part, dans la poursuite des investigations antérieures, d'optimiser les conditions de synthèse du produit attendu et, partant d'entreprendre une étude de ses activités antibilharziennes potentielles.

Dès lors le présent travail décrit la synthèse optimisée d'une nouvelle dithiole-thione à support benzimidazolique et rapporte les activités antibilharziennes de celle-ci vis-à-vis de *Schistosoma mansoni*.

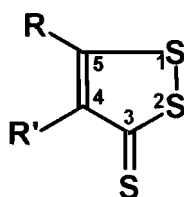
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I - LES DITHIOLE-THIONES

I - 1

DEFINITION

Les dithiole-thiones constituent une classe de composés chimiques de synthèse totale possédant tous dans leur molécule respective, un pont disulfure en position 1,2, une fonction thione en position 3 et une liaison éthylénique en position 4-5 au sein d'une entité hétérocyclique pentagonale. Une telle entité est le plus souvent substituée en ses positions 4 et/ou 5 ou encore accolée à un second cycle [**Figure 4**].



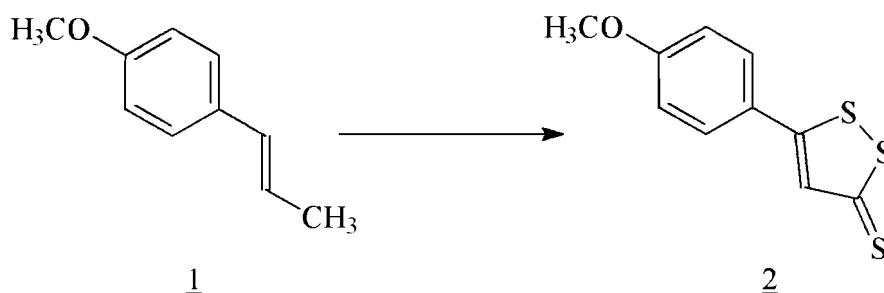
R = alkyle ; aryle

R' = H ; alkyle ; aryle

FIGURE 4

I - 2 PROCEDES D'OBTENTION

Depuis les travaux de BOTTCHER et GAUDIN et ceux de LOZAC'H et ses collaborateurs (**1**, **2**, **3**, **4**) en 1947 relatifs à l'établissement de la structure de la paraméthoxyphényl-5 dithiole-1,2 thione-3 **2** obtenue par sulfuration vers 200°C de l'anéthonne **1** [**Schéma 1**], plusieurs procédés d'obtention des dithiole-thiones sont proposés.



SCHEMA 1

Les procédés les plus en vue, à l'heure actuelle, pour l'obtention des dithiole-thiones par synthèse totale sont :

- l'action du soufre avec les composés éthyléniques et acétyléniques.
- l'action du soufre et du pentasulfure de phosphore avec les composés carbonylés.

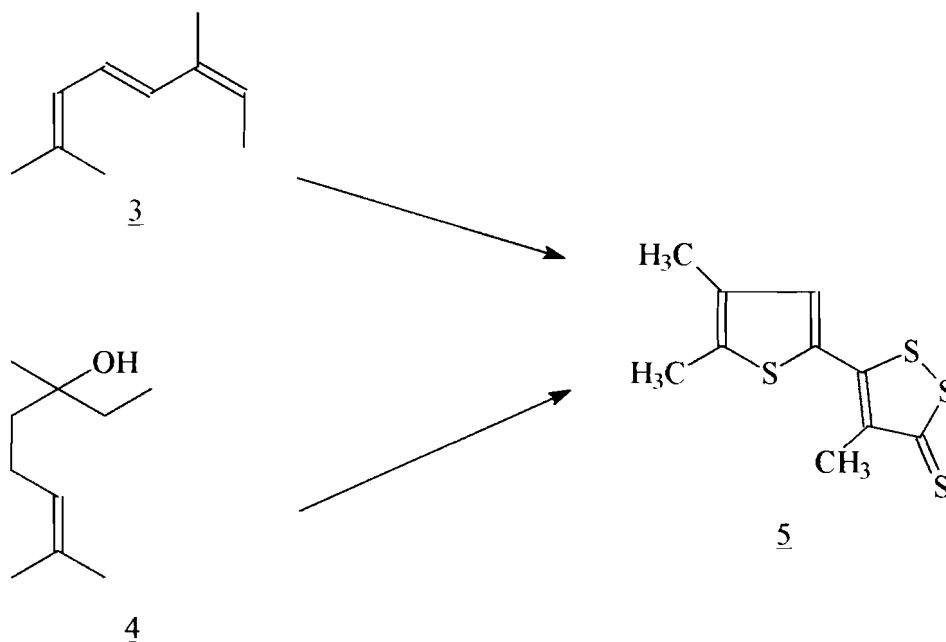
- l'action du pentasulfure de phosphore avec les esters β -cétoniques et les dérivés dimercapto-3,3 propène-2 ones-1.

I - 2-1 Action du soufre avec les composés éthyléniques et acétyléniques

I - 2-1-1 A partir des terpènes acycliques

Le procédé d'obtention des dithiole-thiones à partir des terpènes acycliques a été initié par ERDMANN et ses collaborateurs en 1908 (32) et a donné lieu à plusieurs autres investigations (33, 34, 35, 36).

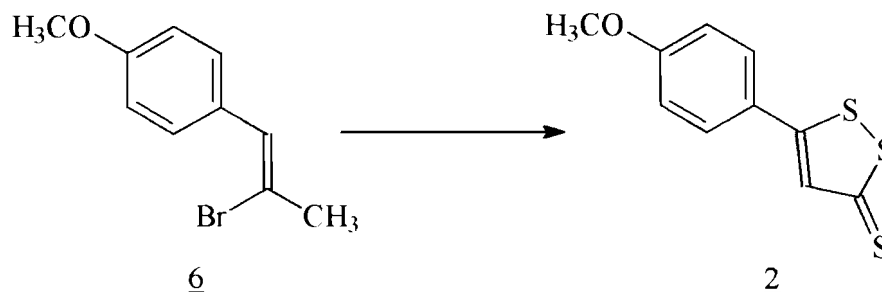
C'est ainsi que LOZAC'H et MOLLIER (37, 38, 39) par sulfuration de l'occimène 3 ou du linanol 4, obtiennent la méthyl-4 (diméthyl-4,5 thiényl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 5 avec toutefois des faibles rendements respectivement de 2% et de 10% [Schéma 2].



SCHEMA 2

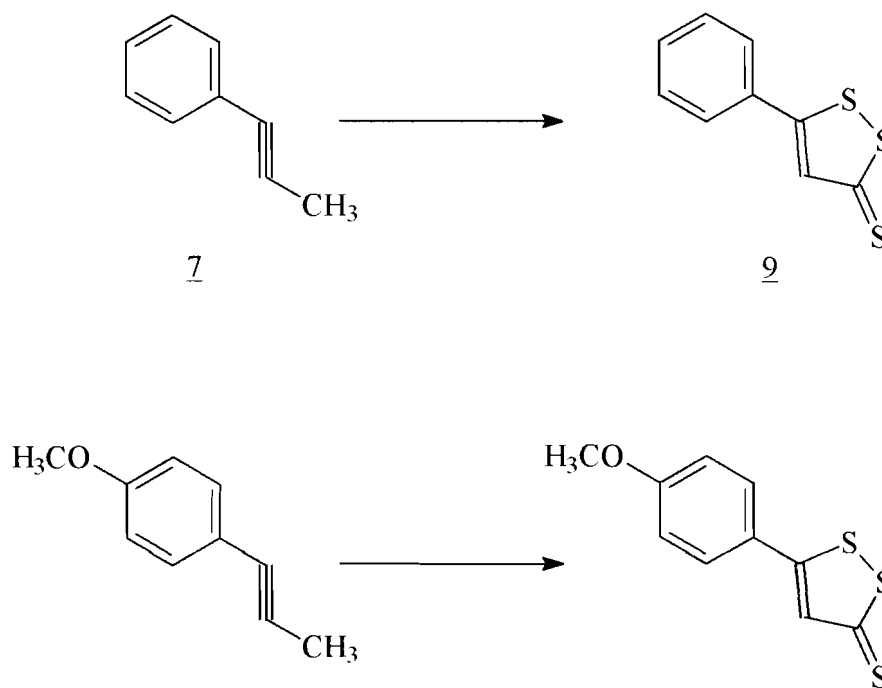
I - 2-1-2 A partir des aryl-propènes et aryl-propynes

En utilisant le bromo-2 paraméthoxyphényl-1 propène **6** comme matière première, LOZAC'H et ses collaborateurs (**4**) réalisent par sulfuration directe la synthèse de la paraméthoxyphényl-5 dithiole-1,2 thione-3 **2**. [**Schéma 3**]



SCHEMA 3

Poursuivant leurs travaux relatifs à la sulfuration des composés organiques, en l'occurrence les dérivés d'aryl-propyne, LOZAC'H et ses collaborateurs (**4**) préparent la phényl-5 dithiole-1,2 thione-3 **9** ainsi que la paraméthoxyphényl-5 dithiole 1,2 thione-3 **2** respectivement par sulfuration du phényl-1 propyne **7** et du paraméthoxyphényl-1 propyne **8**. [**Schéma 4**]

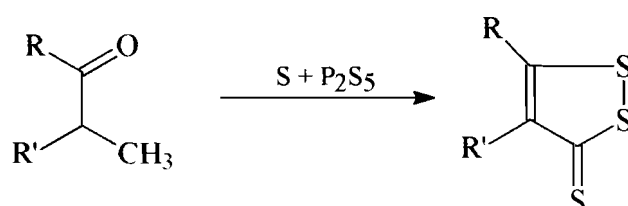


SCHEMA 4

I - 2-2 Action du soufre et du pentasulfure de phosphore avec les composés carbonylés

I - 2-2-1 A partir des cétones aliphatiques ou aromatiques

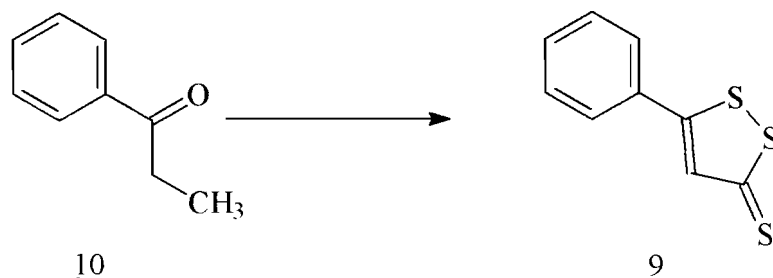
En 1953, LOZAC'H, LEGRAND et DENIS (40, 41, 42) décrivent la synthèse de dithiole-thiones par l'action conjuguée du soufre et du pentasulfure de phosphore avec les cétones aliphatiques ou aromatiques suivant le schéma 5.



SCHEMA 5

Les auteurs obtiennent à partir de la propiophénone 10 au sein du diphényle utilisé comme solvant, la phényl-5 dithiole-1,2 thione-3 9 avec des rendements de 2%.

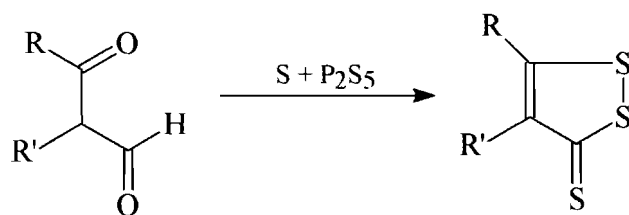
[Schéma 6]



SCHEMA 6

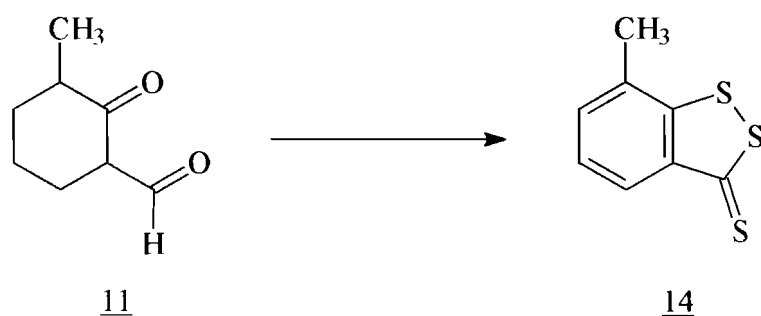
I - 2-2-2 A partir des aldéhydes β-cétoniques

En 1959, LEGRAND (43) s'inspirant de ses travaux antérieurs et de ceux de LOZAC'H et TESTE (44, 45) à propos de la sulfuration des esters β-cétoniques, réalise la synthèse de dithiole-thiones en faisant réagir simultanément le soufre et le pentasulfure de phosphore avec les aldéhydes β-cétoniques suivant le schéma 7.

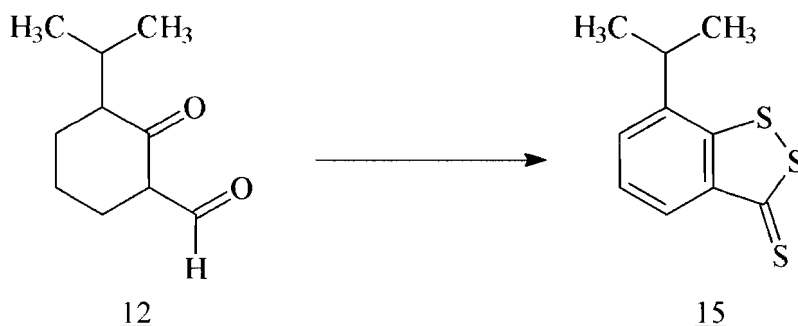


SCHEMA 7

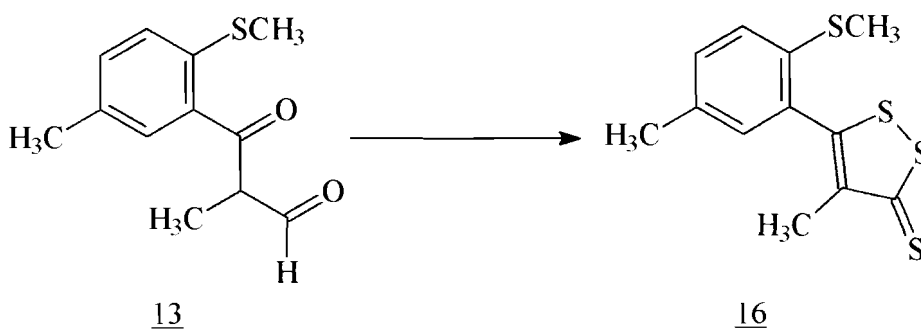
L'auteur isole trois dithiole-thiones non encore décrites à savoir la méthyl-7 benzodithiole-1,2 thione-3 **14**, l'isopropyl-7 méthyl-4 benzodithiole-1,2 thione-3 **15** et la méthyl-4 (méthyl-5 méthylthio-2 phényl)-5 dithiole-1,2 thione-3 **16**, respectivement par sulfuration de la formyl-2 méthyl-6 cyclohexanone **11** [**Schéma 8**], de la formyl-2 isopropyl-6 méthyl-3 cyclohexanone **12** [**Schéma 9**] et du méthyl-2 (méthylthio-2 méthyl-5 phényl)-3 oxo-3 propanal **13** [**Schéma 10**].



SCHEMA 8



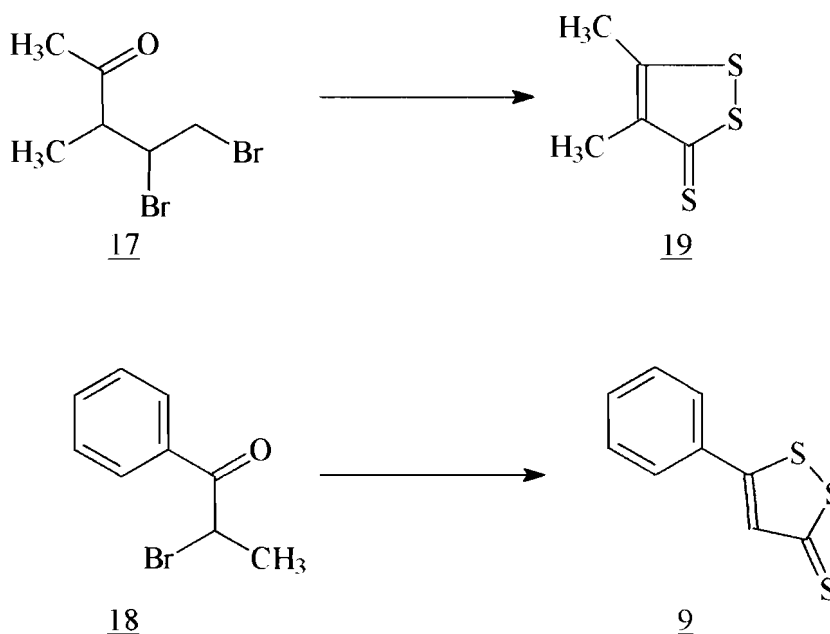
SCHEMA 9



SCHEMA 10

1 - 2-2-3 A partir des cétones α -halogénées

Poursuivant leurs travaux relatifs à l'obtention de dithiole-thiones par action simultanée du soufre et du pentasulfure de phosphore avec les cétones aliphatiques ou aromatiques et dans le souci d'améliorer les rendements, LEGRAND, LOZAC'H et leurs collaborateurs (46) utilisent comme matières premières, des cétones α -halogénées en l'occurrence α -bromées. Les auteurs obtiennent dès lors, à partir de la dibromo-3,4 méthyl-3 butanone-2 17 et de l' α -bromopropiophénone 18 respectivement, la diméthyl-3,4 dithiole-1,2 thione-3 19 et la phényl-5 dithiole-1,2 thione-3 9 avec toutefois des rendements faibles de 8% et 4%. [Schéma 11]



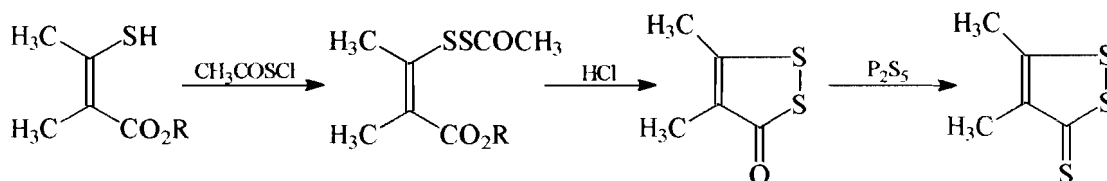
SCHEMA 11

Quant aux cétones non halogénées correspondantes celles-ci conduisent, avec des rendements encore plus faibles, aux dithiole-thiones attendues.

Les auteurs montrent ainsi que la présence d'un atome d'halogène sur la chaîne hydrocarbonée et en alpha de la fonction cétonique, permet d'améliorer les rendements en dithiole-thiones attendues.

I - 2-2-4 A partir des esters aromatiques ortho-sulfydrilés ou des esters β -thiocétoniques

Dans le but d'établir la structure de nouvelles dithiole-thiones, RAOUL et VIALLE (47) décrivent en 1959 une méthode particulière d'obtention de celles-ci en soumettant à sulfuration des esters aromatiques ortho-sulfydrilés ou encore des esters β -thiocétoniques. Les auteurs obtiennent effectivement des dithiole-thiones en isolant auparavant des intermédiaires dithiolones suivant le schéma 12.



SCHEMA 12

Un tel procédé de synthèse a permis aux auteurs d'obtenir, d'une part des dithiole-thiones substituées en position 5 [**Figure 5**] ou encore en position 4 et 5 [**Figure 6**] et, d'autre part des dithiole-thiones à cycle accolé à un homocycle benzénique. [**Figure 7**]

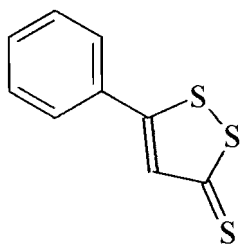


FIGURE 5

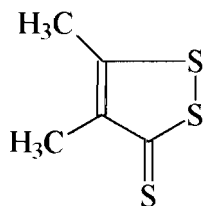


FIGURE 6

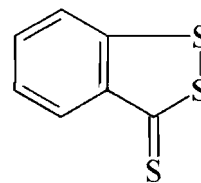


FIGURE 7

I – 2-3 Action du pentasulfure de phosphore avec les esters β -cétoniques et les dérivés dimercapto-3,3 propène-2 one-1

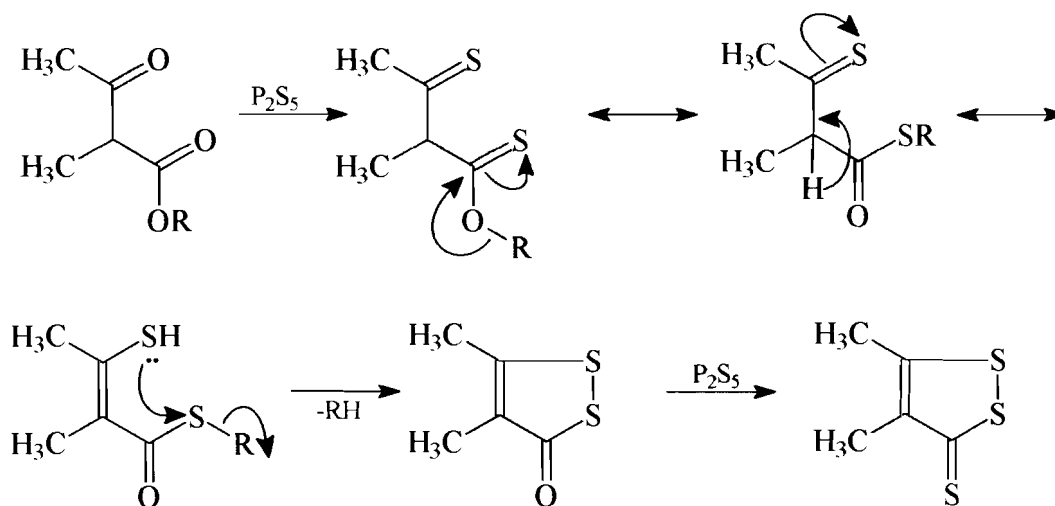
I – 2-3-1 A partir des esters β -cétoniques

En 1955, LEGRAND, LOZAC'H et TESTE (44, 45) obtiennent des dithiole-thiones en faisant réagir le pentasulfure de phosphore avec des esters β -cétoniques.

Selon le mécanisme réactionnel proposé, les auteurs rapportent dans une première phase de la réaction, la sulfuration des groupes carbonyles de la cétone et de l'ester pour aboutir à l'obtention d'un intermédiaire thioester

β -thiocétonique ; ce dernier subirait par la suite, un réarrangement moléculaire par transfert du groupement alkyle de l'alkoxyde sur la fonction thione en position 1 ; puis dans une seconde phase, l'hétérocyclisation de la forme énethiolique de l'intermédiaire obtenu par suite de l'élimination d'une molécule de type RH.

L'intermédiaire dithiolone obtenu subirait aussitôt la sulfuration pour donner lieu à l'obtention de la dithiole-thione attendue. [Schéma 13]

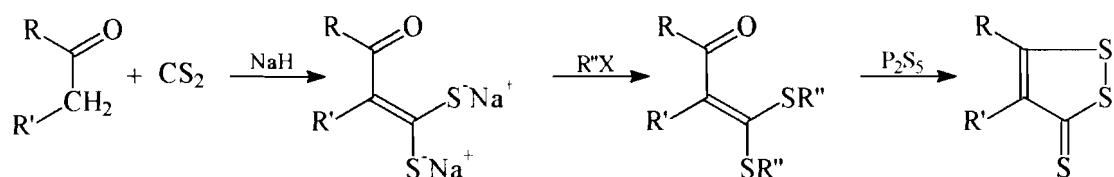


SCHEMA 13

I - 2-3-2 A partir des dimercapto-3,3 propène-2 ones-1

S'inspirant des travaux antérieurs (48, 49, 50, 51), THUILLIER, VIALLE et SAQUET (52 à 56) obtiennent des dithiole-1,2 thiones-3 par sulfuration des dimercapto-3,3 propène-2 ones-1 au moyen du pentasulfure de phosphore.

Les intermédiaires dimercapto-3,3 propène-2 ones-1, à constitution chimique davantage proche de celle des dithiole-thiones selon les auteurs, sont auparavant préparés en condensant à froid vers 10°C au sein du diméthylsulfoxyde (DMSO) et en présence d'hydrure de sodium (NaH), le sulfure de carbone (CS₂) avec des méthyl-cétones, puis en procédant à l'alkylation des dérivés sodés non isolés au moyen d'halogénures d'alkyle. [Schéma 14].



SCHEMA 14

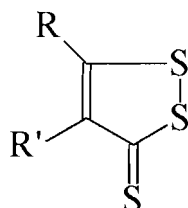
D'une façon générale tous les procédés de synthèse des dithiole-thiones, à l'exception de celui de RAOUL et VIALLE (47) présentent l'avantage d'être particulièrement simples en ce sens qu'ils permettent d'obtenir en une seule étape des dithiole-thiones à partir de matières premières facilement accessibles.

Toutefois, le rendement des réactions reste faible et aucun d'eux ne constitue à lui seul une méthode de synthèse démonstrative permettant d'établir la structure des produits attendus.

Quoi qu'il en soit, le procédé utilisant les dérivés dimercapto-3,3 propène-2 ones-1 comme matières premières, reste le plus en vue puisqu'il permet d'obtenir des dithiole-thiones avec d'excellents rendements selon les données de la littérature. (52 à 56)

I - 3 REACTIVITES CHIMIQUES

Les réactivités des dithiole-thiones reposent sur la présence dans leur molécule respective, d'une part d'entités chimiques caractéristiques que sont le groupement fonctionnel thione en position 3, le pont disulfure 1-2, les liaisons 1-5 et 4-5 et, d'autre part de groupes alkyles en l'occurrence méthyle en position 5. [**Figure 8**]



R = alkyle ; aryle

R' = H ; alkyle ; aryle

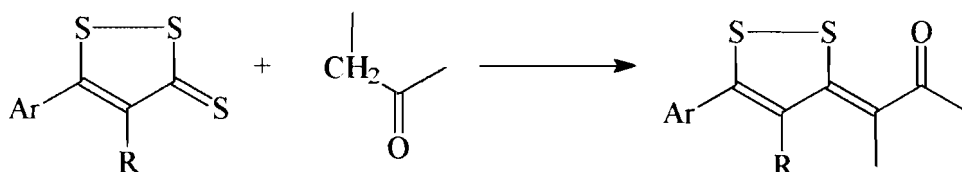
FIGURE 8

I - 3-1 Réactivités dues au groupement fonctionnel thione

I - 3-1-1 Réactions de condensation de type crotonique

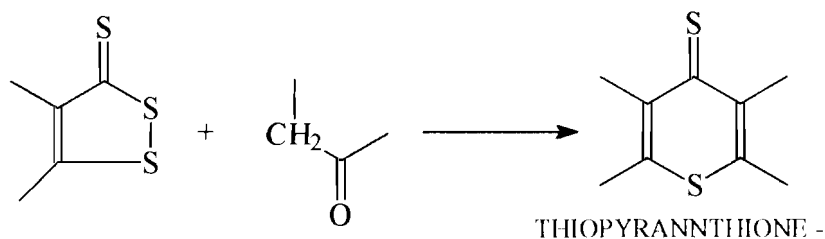
A la lumière des données de la littérature, plusieurs travaux (57, 58) rapportent la grande réactivité du groupement thione des dithiole-thiones pouvant se condenser aisément avec les groupes méthylènes activés au cours des réactions dites de condensation crotonique. Deux types de réactions sont les plus souvent observés :

- la condensation de type crotonique avec conservation du cycle dithiolique, ceci dans le cas où la dithiole-thione est porteuse en position 5 d'un radical aryle stabilisant par résonance le noyau dithiolique. [**Schéma 15**]



SCHEMA 15

- la condensation de type crotonique doublée d'un réarrangement moléculaire impliquant l'ouverture du cycle dithiolique pour les dithiole-thiones ne possédant pas de substituant aryle en position 5 et pour lesquelles le groupement thione en position 3 est peu réactif. [**Schéma 16**]

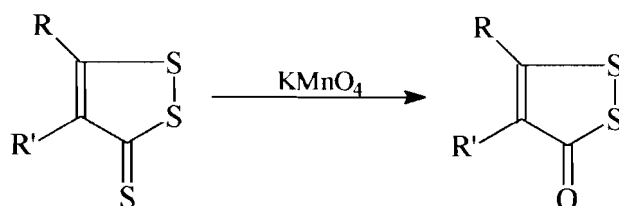


SCHEMA 16

I - 3-1-2 L'oxydation ménagée

L'oxydation ménagée au moyen d'une solution acétonique de permanganate de potassium permet de remplacer l'atome de soufre du groupement thione par un atome d'oxygène. Ce qui conduit à l'obtention d'une dithiole-1,2 one-3. [**Schéma 17**]

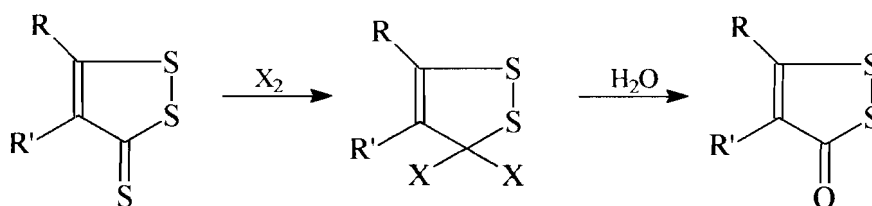
Une telle réaction d'oxydation permet de confirmer la présence du groupement fonctionnel thione dans la molécule des dithiole-thiones. (59)



SCHEMA 17

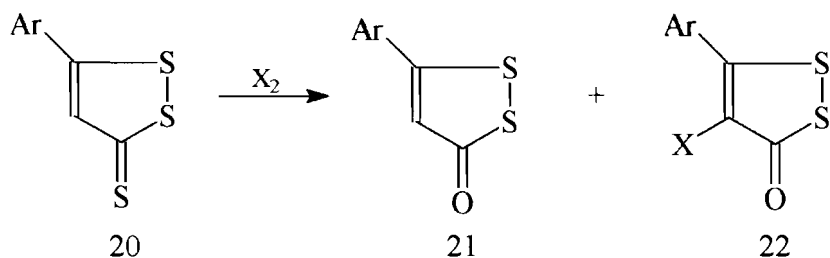
I - 3-1-3 Réaction d'halogénéation

Le chlore ou le brome à froid en solution d'acide acétique réagit avec de nombreuses dialkyl-4,5 dithiole-1,2 thiones-3 pour donner lieu à la formation de dérivés gem-dihalogénés en position 3, lesquels par hydrolyse conduisent aux dialkyl-4,5 dithiole-1,2 ones-3 correspondantes (33, 60). [**Schéma 18**]



SCHEMA 18

Par contre avec les aryl-5 dithiole-1,2 thiones-3 **20** au sein de l'anhydride acétique à chaud, l'halogénéation conduit principalement à l'obtention des aryl-5 dithiole-1,2 ones-3 **21** et aryl-5 halogéno-4 dithiole-1,2 ones-3 **22** [Schéma 19]. (61)

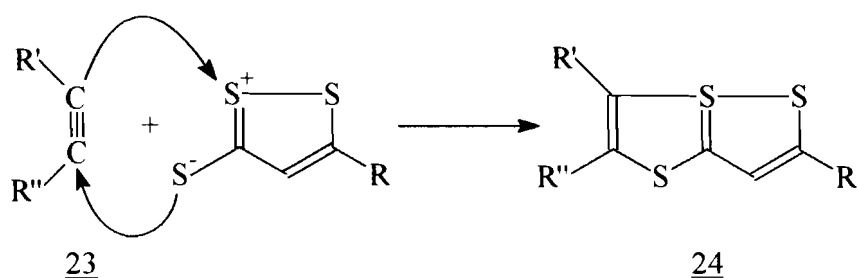


SCHEMA 19

Par ailleurs, il est rapporté en plus des produits halogénés, la formation de produits de dégradation du noyau dithiolique lorsque les réactions sont conduites à chaud au sein de l'acide acétique (61).

I - 3-1-4 Réaction dipolaire

Selon les travaux de BEHRINGER et WIEDENMANN (62), il est rapporté pour la première fois que les dithiole-1,2 thiones-3 substituées en position 5 réagissent aisément avec les dérivés acétyléniques **23** pour donner des composés à structure de type trithia-1,4, 3aS pentalène **24**. Selon les auteurs de tels composés résulteraient d'une addition dipolaire 1,3 de la dithiole-thione sur le dérivé acétylénique suivant le schéma 20.



SCHEMA 20

EASTON et LEAVER (63), de leur côté, étudiant plus particulièrement la condensation de l'acétylène dicarboxylate de méthyle avec les dithiole-1,2 thione-3, décrivent, pour ce qui les concernent, des composés à structure de type dithiole-1,3 ylidène-2 thiocétone. [Figure 9]

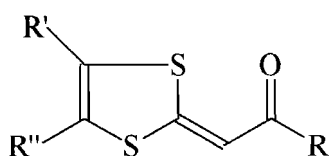
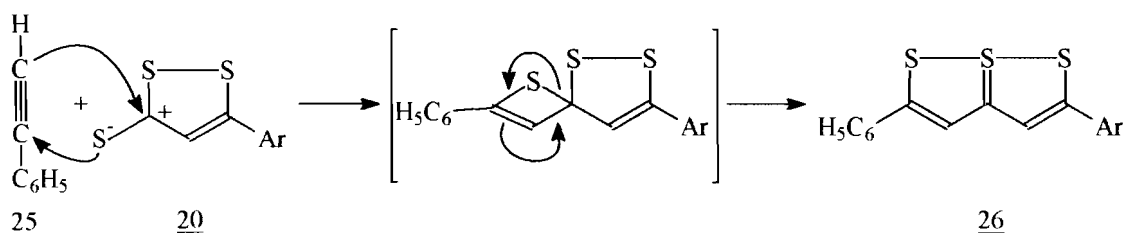


FIGURE 9

Quant à VIALLE et ses collaborateurs (64), ceux-ci montrent que la structure des produits de la réaction des dithiole-1,2 thiones-3 avec les dérivés acétyléniques en l'occurrence avec le phénylacétylène 25, dépend des conditions réactionnelles. En effet selon les auteurs, le chauffage à reflux pendant 15 heures, dans du xylène anhydre, d'un mélange équimolaire de phénylacétylène et d'aryl-5 dithiole-1,2 thione-3 20, conduit à l'obtention d'un trithia-1,6, 6aS pentalène 26 dont la formation s'expliquerait par une addition dipolaire-1,2 de l'acétylénique sur le groupement thiocarbonyle de la dithiole-thione suivie d'un réarrangement moléculaire. (65) [Schéma 21]

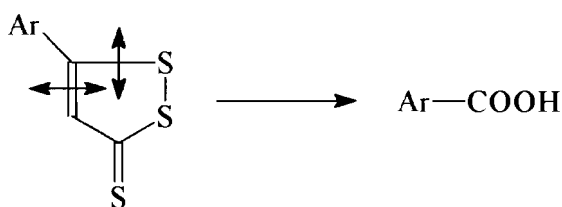


SCHEMA 21

I - 3-2 Réactivité due à la fragilité des liaisons 1-5 et 4-5 :

* Réaction d'oxydation en milieu alcalin

L'oxydation en milieu alcalin des dithiole-thiones a fait l'objet de plusieurs travaux (1, 33) qui rapportent la destruction totale du cycle dithiolique par suite d'un clivage des liaisons-1-5 et 4-5 conduisant à l'obtention d'un composé à fonction acide carboxylique suivant le schéma 22.



SCHEMA 22

I - 3-3 Réactivité due au pont disulfure 1-2 :

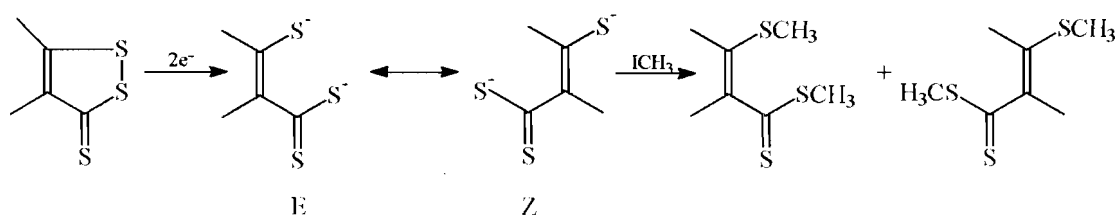
* Réduction électrochimique réversible

L'étude de la réactivité du pont disulfure 1-2 des dithiole-1,2 thiones-3 a fait l'objet de nombreux travaux. C'est ainsi que MAIGNAN et VIALLE (66) décrivent la réduction des dithiole-thiones au niveau du pont disulfure 1-2 par action du sulfure de sodium suivie d'une méthylation du dianion intermédiairement formé. Les auteurs rapportent qu'il s'agit bien d'une réduction mettant en jeu des électrons au niveau de la liaison soufre-soufre.

FLEURY (25) et VIANA (67) quant à eux, rapportent la réduction électrochimique des dithiole-thiones, réalisée par la technique d'électrolyse à potentiel électrochimique et à cathode de platine (ou de mercure) au sein d'un solvant non aqueux.

Selon les auteurs, le voltammogramme des dithiole-thiones montrerait, au cours de la réaction, une réduction irréversible suivie d'une oxydation également irréversible.

Dès lors, la réaction de réduction se traduirait par la coupure chimique réversible de la liaison soufre-soufre du pont disulfure 1-2. Le dianion dithiolique potentiel ainsi formé, peut alors subir une isomérisation pour donner lieu à la formation des isomères Z et E, lesquels sont aisément alkylés . [Schéma 23]



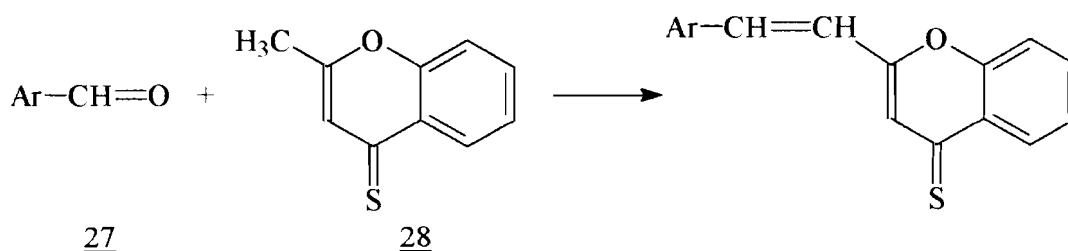
SCHEMA 23

I - 3-4 Réactivité due au groupe méthyle fixé en position 5 :

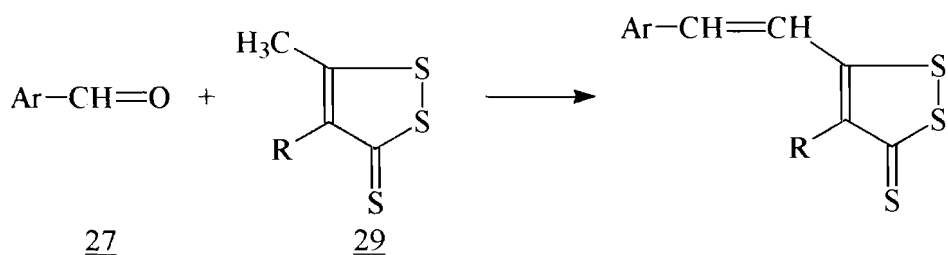
* Réaction de crotonisation

S'inspirant des travaux antérieurs (68) relatifs à la condensation par crotonisation de la méthyl-2 thio-4 chromone 28 avec des aldéhydes aromatiques 27, QUINIOU et LOZAC'H (69) rapportent pour leur part, la crotonisation des méthyl-5 dithiole-1,2 thiones-3 29 avec divers aldéhydes aromatiques et hétérocycliques.

Les auteurs expliquent de telles réactions de crotonisation par l'activation du méthyle en position 2 des thiochromones et celui en position 5 des dithiole-thiones sous l'influence des groupes thiones respectivement en position 4 des thiochromones [Schéma 24] et en position 3 des dithiole-thiones [Schéma 25]

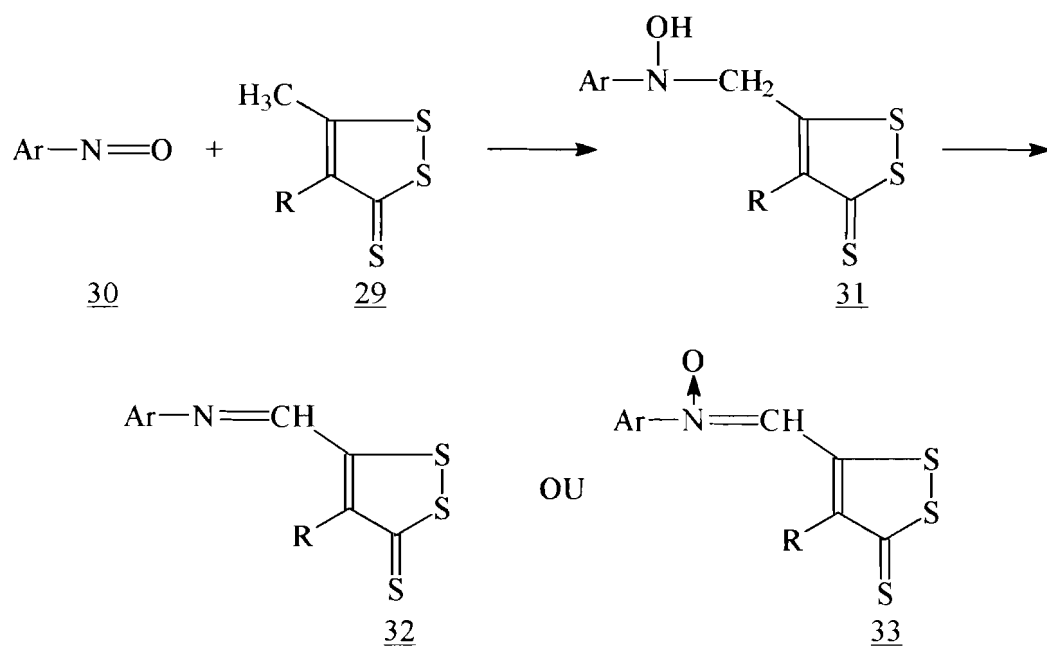


SCHEMA 24



SCHEMA 25

Par ailleurs, d'autres travaux confirmant la grande réactivité du groupe méthyle fixé en position 5 des dithiole-1,2 thiones-3 sont rapportés par QUINIOU et ses collaborateurs (70). Les auteurs décrivent la condensation de dérivés nitroso-aromatiques 30 avec la méthyl-5 dithiole-1,2 thione-3 29 et montrent que le produit attendu est soit une imine 32 par déshydratation de l'hydroxylamine intermédiairement obtenu, soit une nitrone 33 par oxydation de l'intermédiaire 45. [Schéma 26]

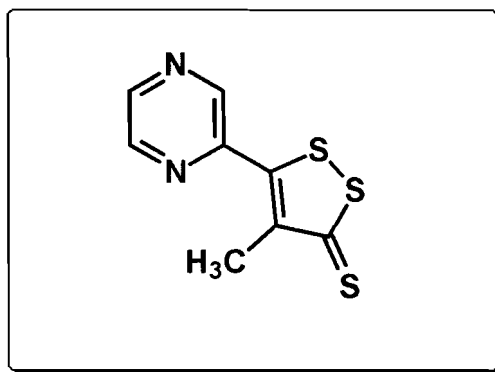


SCHEMA 26

II - L'OLTIPRAZ[®]

II - 1 CHIMIE

Il s'agit de la **Méthyl-4 (pyrazinyl-2)-5 dithiole-3H-1,2 thione-3** [**Figure 1**]. Synthétisé en 1972 puis introduit en thérapeutique à partir de 1977 par BARREAU et ses collaborateurs (5, 26, 27) pour le compte des Laboratoires Rhône-Poulenc-Santé, L'OLTIPRAZ se présente sous forme de cristaux rouges fondant à 164°C (26). Les données des analyses qualificatives et quantitatives confirmant sa structure, sont rapportées. (26, 27)



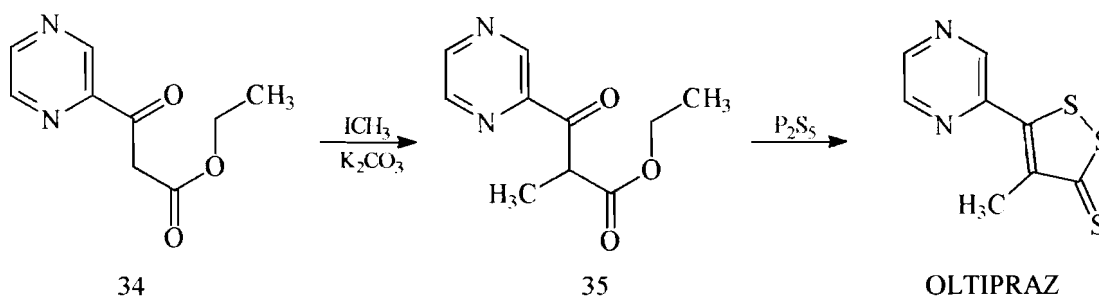
Formule brute : $C_8H_6N_2S_3$

PM : 226,23

FIGURE 1

S'inspirant des travaux de LEGRAND, LOZAC'H et TESTE (44, 45) relatifs à l'obtention de dithiole-thiones par sulfuration des esters β -cétoniques au moyen du pentasulfure de phosphore, BARREAU et ses collaborateurs (26, 27) obtiennent l'OLTIPRAZ en utilisant la pyrazinyl-3 oxo-3 propionate d'éthyle comme matière première.

Les auteurs rapportent dans une première phase de la synthèse, la préparation de la méthyl-2 pyrazinyl-3 oxo-3 propionate d'éthyle **35** par méthylation de la pyrazinyl-3 oxo-3 propionate d'éthyle **34** au moyen de l'iodure de méthyle (ICH_3) en présence du carbonate de potassium (K_2CO_3) et au sein de l'acétone utilisé comme solvant. L'intermédiaire ainsi obtenu, subit dans une seconde phase, l'action du pentasulfure de phosphore (P_2S_5) au sein du toluène reflux pour conduire effectivement à la méthyl-4 (pyrazinyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 ou OLTIPRAZ. [**Schéma 27**]



SCHEMA 27

II - 2 PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET MODE D'ACTION

II - 2-1 Propriétés pharmacologiques

L'Oltipraz est un antibilharzien doué de propriétés schistosomicides vis à vis de *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma intercalatum*. (5 à 12)

Il posséderait en outre, des propriétés chimiopréventives antimitotiques par inhibition de la carcinogenèse hépatique (13, 14, 15), pulmonaire (16) et du colon (17). Les propriétés seraient liées à l'action inductive de la drogue, lorsqu'elle est administrée à des doses faibles et au long cours, sur les enzymes impliquées dans la détoxification électrophile cancérigène (13, 14, 15, 18 à 20).

L'OLTIPRAZ serait de plus, un agent antiviral par son action inhibitrice sur la réplication du VIH-1 et sur la transcriptase reverse VIH-1 au niveau des cellules lymphocytaires T. (21, 22).

Par ailleurs, l'OLTIPRAZ serait dénué presque totalement de toxicité aiguë, subaiguë ou chronique par voie orale. En effet par cette voie, seule voie d'administration, l'OLTIPRAZ n'a que peu ou pas d'effets sur les systèmes cardio-vasculaire, respiratoire, et nerveux central (5, 12, 71, 72).

Il ne provoquerait aucun symptômes cutané, rénal et hépatique (8, 10). De plus la recherche d'une hémolyse chez le sujet déficitaire en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD) reste négative (8, 10). Il en est de même pour la recherche d'une activité mutagène et immunosuppressive (71).

L'OLTIPRAZ ne provoquerait aucune modification des constantes sanguines (8).

II - 2-2 Mécanisme d'action

La connaissance du mode d'action de l'OLTIPRAZ révèle que son activité schistosomicide serait la conséquence d'une diminution de la concentration en glutathion (GSH) chez le schistosome (23). En effet, il est rapporté que l'administration à l'hôte parasite d'une dose de 250 mg/kg d'OLTIPRAZ entraîne chez le schistosome, trois effets successifs (23, 25) :

- une décroissance du taux de GSH qui, à l'issue de 24 heures représente le tiers du taux initial de 2,4 mmol/l de GSH.

- une migration progressive des vers des veines mésentériques vers les veines hépatiques (c'est le shift hépatique) ; la migration étant amorcée au 10^{ème} jour suivant l'administration du médicament ; elle se termine au 15^{ème} jour.

- une seconde décroissance du taux de GSH dès le 10^{ème} jour, d'amplitude égale à la première qui, achevée vers le 15^{ème} jour, marque la mort des vers.

Il est montré par ailleurs, que les conséquences de la diminution des réserves en GSH chez le parasite sont aggravées par l'administration simultanée de L-cystéine (23). Une telle diminution du taux de GSH chez le parasite ne semble pas être liée au blocage de la synthèse de GSH (73). En effet, selon certains auteurs (25, 73), ni l'OLTIPRAZ, ni ses métabolites n'inhibent la L- γ glutamyl-cystéine synthétase et la GSH synthétase, deux enzymes faisant partie de l'équipement enzymatique du schistosome.

En revanche, l'OLTIPRAZ au cours de sa métabolisation, se comporterait comme une prodrogue, ce qui est compatible avec sa lenteur d'action (5, 25, 74), pour conduire à l'obtention d'un disulfure dissymétrique ouvert. Ce métabolite disulfurique, en l'occurrence l'anion thiyle, serait obtenu à la suite de l'attaque nucléophile *in vivo* du glutathionate (GS⁻) sur l'OLTIPRAZ, provoquant ainsi l'ouverture de l'hétérocycle dithiolique. Ce dérivé thiyle subirait ultérieurement, par suite d'un transfert électronique, une hétérocyclisation pour conduire à l'obtention d'un métabolite de type pyrazino (1,2-a) pyrrole porteur de deux groupements mercaptans ou disulfures. [Schéma 28] (cf page 21)

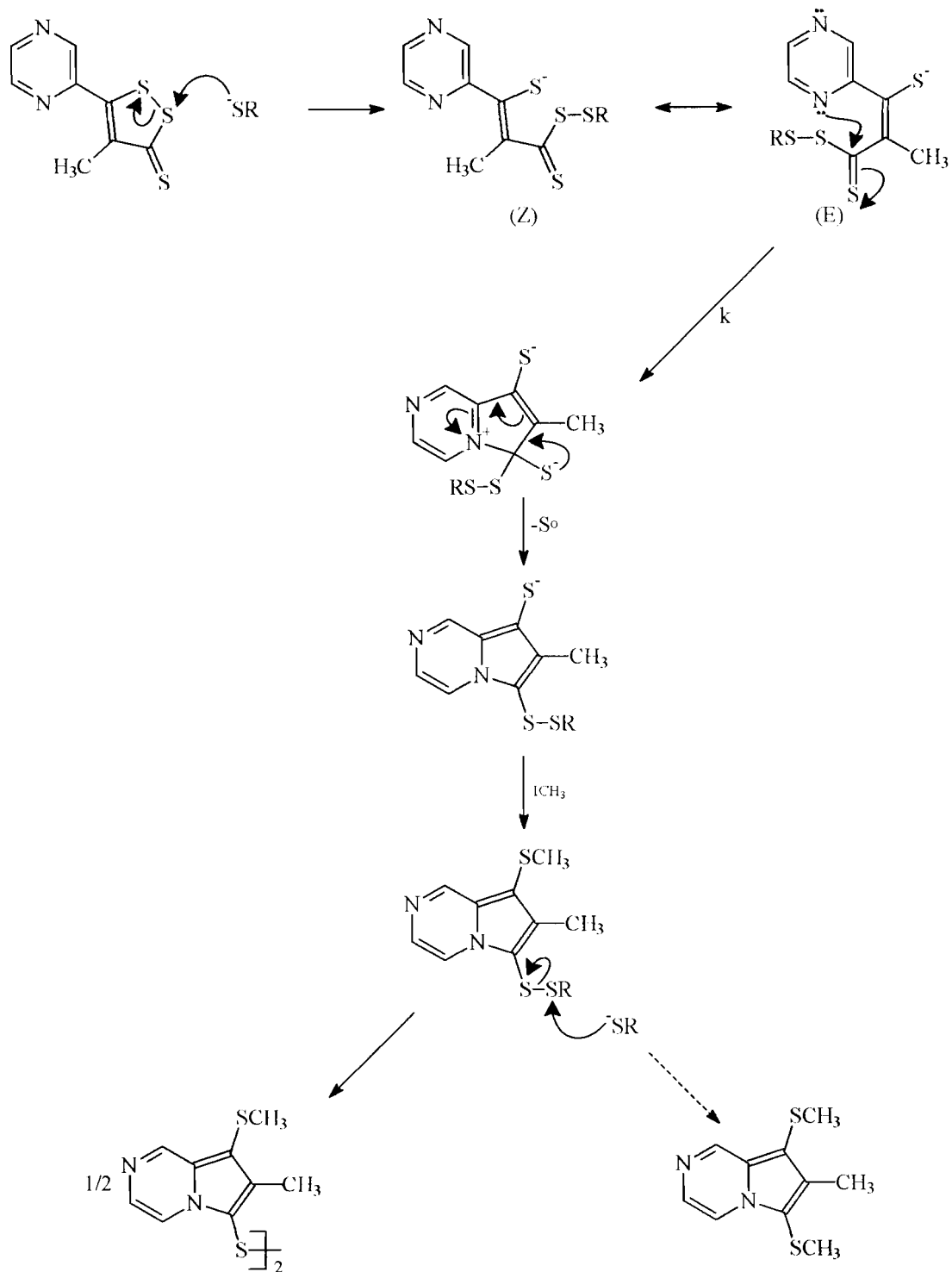
De telles structures seraient obtenues grâce à la présence dans la constitution chimique du vecteur pharmacophore d'un azote pyrazinique. (24, 25)

De plus, il est rapporté (25, 74) que seul le disulfure thiyle formé uniquement chez le schistosome au cours de la métabolisation de l'OLTIPRAZ, serait actif sur le schistosome. En effet ce métabolite inhiberait la glutathion (GSSG) réductase, une enzyme à thiol qui, chez les êtres vivants, dans des conditions non pathologiques, maintient le rapport

[GSSG] / [GSH] au voisinage de 1% ; et par voie de conséquence, provoquerait la diminution du taux de GSH chez le schistosome. (25, 75 à 77) [Schéma 29] (cf page 22)

Quant à la métabolisation de l'OLTIPRAZ jusqu'au stade pyrazino-pyrrole, celle-ci n'interviendrait que chez l'hôte parasité, chez qui, elle constituerait un processus de détoxification (25) .

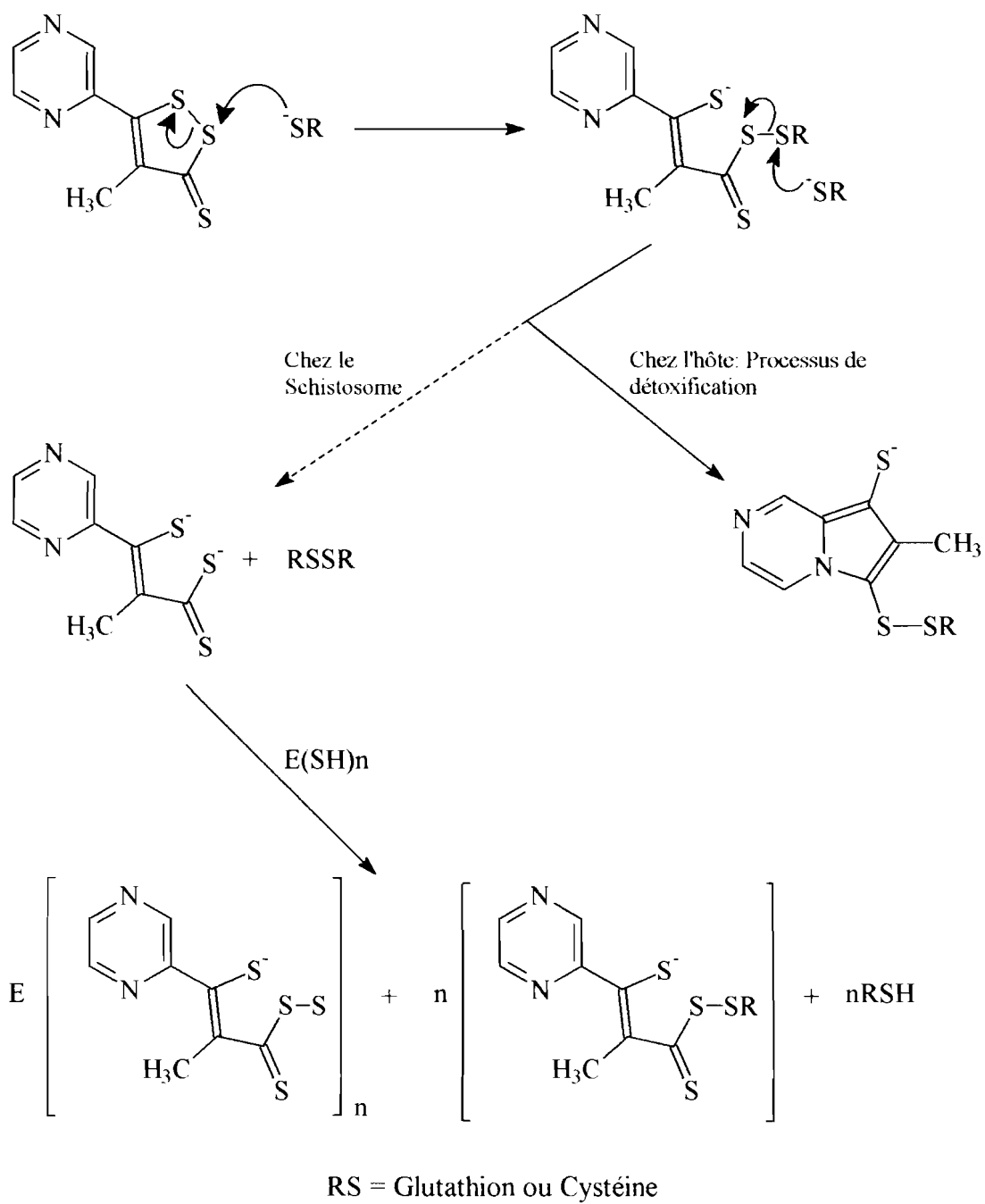
Il semble donc, à priori, que chez le schistosome, le disulfure thiyle ouvert réagirait avec le glutathionate (GS⁻) avant d'avoir eu le temps de se cycliser. Il se formerait ainsi un groupement thiocarboxylate qui porteur d'une charge négative, ne pourrait plus subir l'attaque nucléophile de l'atome d'azote pyrazinique pour conduire à la formation du métabolite pyrazino-pyrrole. [Schéma 29] (cf page 22)



R = Et, cystéine, glutathion

**METABOLISATION DE L'OLTIPRAZ EN COMPOSE PYRAZINO-PYRROLE
SOUS L'ACTION DE L'ETHANETHIOLATE ET DE NUCLEOPHILES
BIOLOGIQUES**

SCHEMA 28



ACTIVITE INHIBITRICE DE L'ESPECE THIOCARBOXYLATE OUVERT SUR LE GSSG REDUCTASE DU SCHISTOSOME *IN VITRO*

SCHEMA 29

II - 3 PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES

- L'OLTIPRAZ présente une bonne tolérance par voie orale, seule voie d'administration du médicament.

- L'effet antibilharzien de l'OLTIPRAZ apparaît au bout d'une semaine et n'est complète qu'après 15 à 20 jours de traitement par voie orale. (78 à 80)

- Toutefois il est rapporté (79, 81) que l'administration de l'OLTIPRAZ au cours des repas améliore son absorption digestive et multiplierait par quatre sa biodisponibilité.

- La demi-vie plasmatique est de 7 heures (71).

- La diffusion serait plus rapide au niveau des parasites que chez l'hôte parasité ; de plus chez les schistosomes, sa pénétration serait plus aisée chez la femelle que chez le mâle. (24, 82).

- En ce qui concerne sa biotransformation, elle a lieu presque exclusivement chez le schistosome pour donner lieu à la formation de métabolites actifs de type « thiyle » ouverts et rarement chez l'hôte parasité, chez qui, les métabolites inactifs formés de type pyrazino-pyrrole sont responsables du processus de détoxification (24, 25).

- L'élimination de l'OLTIPRAZ, 24 heures après son administration orale, se ferait sous forme de métabolites inactifs à structure pyrazino-pyrrole, par les urines et les fèces dans des proportions respectives de 40% et 60%. (5, 24, 25)

II - 4 ASPECTS THERAPEUTIQUES

- L'OLTIPRAZ est indiqué en tant que schistosomicide dans le traitement des bilharzioses à : (9, 71, 80, 81)

* *Schistosoma mansoni* avec pratiquement 100% de négativité des selles ;

* *Schistosoma haematobium* avec une disparition de l'ovurie dans 90% des cas et une réduction de cette ovurie dans la majorité des cas restants ;

* *Schistosoma intercalatum* avec 87% de succès.

- Ses manifestations d'intolérance sont en rapport avec la posologie et les modalités d'administration (8, 71, 72, 78 à 80). En effet, les effets secondaires observés, surtout aux doses élevées en prise unique et à jeûn, sont principalement d'ordre :

- digestifs caractérisés par des nausées, vomissements, douleurs abdominales et des diarrhées.

- neuro-psychiatriques caractérisés par des céphalées, vertiges, insomnies et une paresthésie des extrémités.

Quoi qu'il en soit, tous ces effets secondaires observés sont transitoires et n'obligent que très rarement l'arrêt du traitement. De plus leur durée ne dépasse guère les 24 heures.

- L'OLTIPRAZ est contre-indiqué, à l'instar des autres antibilharziens, en cas de:

*bilharziose hépato-splénique évolutive avec shunts porto-caves qui amène directement le médicament à l'encéphale **(83)** ;

*bilharziose hépato-splénique constituée avec une hypertension portale et parfois des hémorragies digestives **(83)**.

- Concernant l'association de l'OLTIPRAZ avec d'autres agents thérapeutiques, peu d'interactions néfastes sont rapportées. En revanche, il est décrit à l'instar des autres antibilharziens **(8, 80, 83)** des associations bénéfiques de l'OLTIPRAZ avec une thérapeutique :

*sédatif, anxiolytique par le Diazépan.

*antiémétique, antivertigineuse par le Metopimazine.

*antiseptique urinaire par les fluoroquinolones, l'Acide nalidixique, les sulfamides, la Nitroxoline.

*antipaludique par la Chloroquine.

- L'OLTIPRAZ dans le RP 35.972, se présente sous forme de comprimé dosé à 500 mg.

La posologie préconisée dans le traitement des bilharzioses est de :

25 mg/kg corporel en 3 prises pendant 1 à 2 jours avec une dose maximale de 1,5 à 2g à ne pas dépasser.

ou 35 mg/kg en 2 ou 4 prises, en un seul jour avec une dose maximale de 2g à ne pas dépasser.

De telles posologies et modalités d'administration amélioreraient l'action et la tolérance générale de l'OLTIPRAZ. **(71, 80, 81)**

ETUDE CHIMIQUE

I - PARTIE THEORIQUE

Avant propos

La dithiole-thione à support benzimidazolique **V** que nous avons synthétisé, a été obtenue à partir de la bistiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV**. Celle-ci a été préparée à partir de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** résultant d'une méthylation de l'acétyl-2 benzimidazole **II** (**84**). Ce dernier provient quant à lui de l'oxydation de l'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole **I** (**84**), lequel est préparé par condensation de l'orthophénylène-diamine **a** avec l'acide lactique **b**.

I - 1 L'HYDROXY-ETHYL-2 BENZIMIDAZOLE

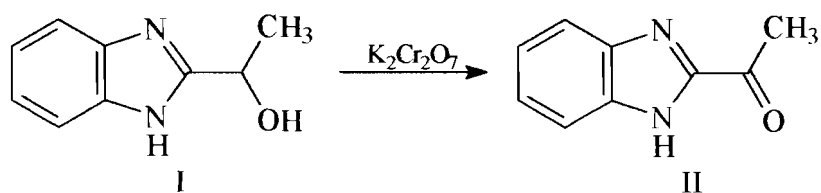
L'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole **I** auquel nous avons accédé a été préparé selon la méthode décrite dans la littérature (84) . La méthode proposée consiste à condenser l'orthophénylène-diamine **a** avec l'acide lactique **b** au sein de l'acide chlorhydrique 4N. Le produit attendu est isolé par suite de neutralisation du mélange réactionnel, avec un rendement de 88%. [Schéma 30]

SCHEMA 30

Le point de fusion ainsi que le spectre infrarouge sont conformes à ceux décrits dans la littérature (84).

I - 2 L'ACÉTYL-2 BENZIMIDAZOLE

Le mode d'obtention de l'acétyl-2 benzimidazole **II** est également décrit dans la littérature (84). Celui-ci est préparé en soumettant l'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole **I** au sein de l'acide acétique, à l'action du bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à chaud. La neutralisation du mélange réactionnel refroidi, permet d'isoler l'acétyl-2 benzimidazole **II** avec un rendement de 50%. [Schéma 31]



SCHEMA 31

Le point de fusion, les spectres infrarouge et de résonance magnétique nucléaire sont conformes à ceux rapportés dans la littérature (84) .

L'acétyl-2 benzimidazole **II** présente :

- en spectrométrie dans l'infrarouge (IR : KBr)

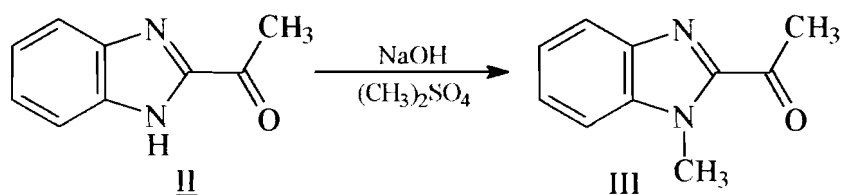
$\nu(\text{>C=O})$ vers 1670 cm^{-1}
 $\nu(\text{>NH})$ vers 3280 cm^{-1}

- en spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N. ; CDCl_3)

2,90 ppm ; 3H (S) ; (– CO – CH_3)
7,50 ppm ; 3H (m) ; (H aromatiques)
7,95 ppm ; 1H (m) ; (H aromatique)
10,70 ppm ; 1H (pic aplati) ; (NH benzimidazolique échangeable par D_2O).

I – 3 L'ACÉTYL-2 METHYL-1 BENZIMIDAZOLE

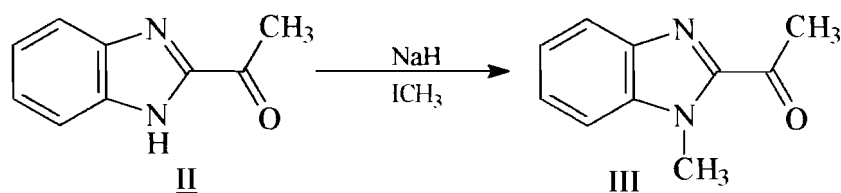
Dans un précédent travail, A. KASSY et L. OUATTARA (**31**) s'inspirant de travaux antérieurs (**85**) rapportent la synthèse de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** par méthylation de l'acétyl-2 benzimidazole **II** au moyen de sulfate de méthyle et au sein d'une solution aqueuse de soude diluée à 20%. Les auteurs obtiennent effectivement le produit attendu avec un rendement de 57% . [Schéma 32]



SCHEMA 32

Pour notre part, nous nous sommes proposés d'optimiser les conditions d'obtention de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** en soumettant à l'action de l'iodure de méthyle (ICH_3) l'acétyl-2 benzimidazole **II** au sein du diméthylsulfoxyde (DMSO) utilisé comme solvant et en présence d'hydrure de sodium (NaH).

[Schéma 33]



SCHEMA 33

En opérant de cette façon, nous avons obtenu l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** avec des rendements de 62%.

Les spectres infrarouge et de résonance magnétique nucléaire ainsi que l'analyse élémentaire confirment sa structure .

L'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** présente :

- en spectrométrie dans l'infrarouge (IR ; KBr)

$\nu(>C=O)$ vers 1680 cm^{-1}

- en spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N. ; CDCl_3)

2,90 ppm ; 3H (S) ; (-CO-CH₃)

4,12 ppm ; 3H (S) ; (N-CH₃)

7,50 ppm ; 3H (m) ; (H aromatiques)

7,95 ppm ; 1H (m) ; (H aromatique)

I – 4 LA BISTIOMETHYL-3,3 (METHYL-1 BENZIMIDAZOLYL-2)-1 PROPENE-2 ONE-1

A l'encontre des conditions expérimentales d'obtention des dérivés de la dimercapto-3,3 propène-2 one-1 décrite dans la littérature (**52 à 56**), A.KASSY et L. OUATTARA dans un travail précédent préparent pour leur part, la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV** à partir de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** en :

- utilisant une quantité importante de diméthylsulfoxyde (DMSO) comme solvant,

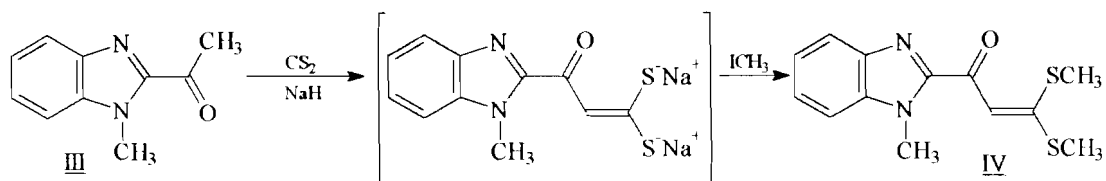
- additionnant l'hydrure de sodium (NaH) avant le sulfure de carbone (CS_2) à une température variant entre $8^\circ\text{-}10^\circ\text{C}$.

Dans de telles conditions expérimentales et pendant un temps de contact relativement court, les auteurs (**31**) obtiennent après méthylation, la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV** attendue avec un rendement de 40%.

A l'instar de la méthode de THUILLIER et ses collaborateurs (**52 à 56**) et à l'encontre de celle de A. KASSY et L. OUATTARA (**31**), nous nous sommes proposés pour notre part, d'optimiser les conditions de synthèse du composé **IV** .

Nous avons procédé, dans un premier temps, à la condensation de l'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole **III** avec le sulfure de carbone par suite d'addition de l'hydrure de sodium en petites portions tout en maintenant la température vers 10°C ; puis dans un deuxième temps, à l'alkylation au moyen de l'iodure de méthyle (ICH_3) du dérivé sodé intermédiairement formé.

Les réactions ont été menées au sein de faibles quantités de diméthylsulfoxyde utilisé comme solvant et pendant un temps d'agitation plus prolongé . [**Schéma 34**]



SCHEMA 34

En procédant de cette manière, nous avons obtenu la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV** avec des rendements plus élevés de 70% et 85% après respectivement 12 heures et 24 heures de temps de contact.

Les caractéristiques spectrales ainsi que l'analyse centésimale confirment bien la structure de la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV**.

La bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV** présente :

- en spectrométrie dans infrarouge (IR ; KBr)

$\nu(\text{CO-C} = \text{C})$ vers 1620 cm^{-1}

- en spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N. ; CDCl_3)

2,55 ppm ; 3H (S) ; (-SCH₃)

2,65 ppm ; 3H (S) ; (-SCH₃)

4,25 ppm ; 3H (S) ; (N-CH₃)

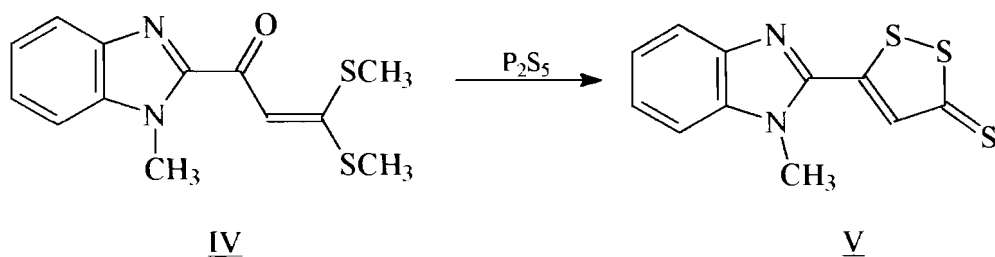
7,45 ppm ; 3H (m) ; (H aromatiques)

7,60 ppm ; 1H (S) ; (H éthylénique)

7,86 ppm ; 1H (m) ; (H aromatique)

1-5 LA (METHYL-1 BENZIMIDAZOLYL-2)-5 DITHIOLE 1,2 THIONE-3

Afin d'obtenir la (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 **V** dont nous nous sommes proposés d'étudier l'activité schistosomicide, nous avons comme rapporté par A. KASSI et L. OUATTARA (**31**), soumis la bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 **IV** à l'action du pentasulfure de phosphore (P_2S_5) dans du xylène bouillant, et ceci pendant un temps relativement prolongé. A l'encontre des méthodes antérieures (**52** à **56**), notre dithiole-thione attendue, à savoir le composé **V**, a été isolée à partir du solide formé au cours de la réaction et non de la phase xylénique. [**Schéma 35**]



SCHEMA 35

Les spectres infrarouge et de résonance magnétique nucléaire ainsi que l'analyse centésimale confirment sa structure .

La (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 V présente :

- en spectrométrie dans l'infrarouge (IR ; KBr)

$\nu(>C = S)$ vers 1540 cm^{-1}

- en spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N. ; CDCl_3)

4,10 ppm ; 3H (S) ; (N-CH₃)

7,45 ppm ; 3H (m) ; (H aromatiques)

7,60 ppm ; 1H (S) ; (H dithiolique)

7,85 ppm ; 1H (m) ; (H aromatique)

II - PARTIE EXPERIMENTALE

Remarques générales

- Les rendements expérimentaux sont exprimés en pourcentage de produit pur isolé par rapport à la quantité de matière première mise en oeuvre.

- Les composés ont été identifiés par spectroscopie infrarouge, de résonance magnétique nucléaire du proton (^1H , RMN) et leur analyse centésimale.

- Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un spectromètre Beckman ACCULAB II. Les échantillons étant solides, ont été pastillés dans le bromure de potassium. Les fréquences d'absorption sont décrites en cm^{-1} .

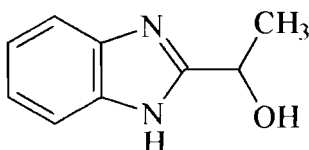
- Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été réalisés au Laboratoire de Physique de la Faculté de Pharmacie de LILLE sur spectromètre C-60 HL JEOL (^1H) et BRUCKER WP 80 équipé d'un système à transformateur de FOURIER (^{13}C).

- Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence ($\delta_{\text{TMS}} = 0$).

- Les analyses élémentaires des produits ont été effectuées.

- Les points de fusion sont déterminés à l'aide d'un appareil BÜCHI 510 K avec des tubes capillaires de marque électrothermal n° AT 4022.

II – 1 PREPARATION DE L'HYDROXYETHYL-2 BENZIMIDAZOLE : I



REACTIFS

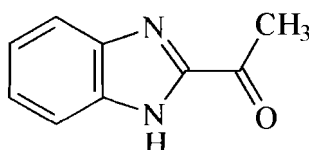
Orthophénylènediamine (0,042 mole).....	4,5 g
Acide lactique (0,06 mole).....	5,5 g (4,5 ml)
Acide chlorhydrique 4N.....	50 ml

MODE OPERATOIRE

Dans une solution d'acide chlorhydrique 4N contenant 4,5 g d'orthophénylènediamine, sont additionnés sous agitation 4,5 ml d'acide lactique. Puis le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 30-40 minutes . Après refroidissement, et neutralisation par de l'ammoniaque, le précipité obtenu après 12 heures de contact à + 4° C, est essoré, lavé à l'eau puis séché .

- Rendement : 88%
- Recristallisation : Eau
- F°C = 176-177° ; F°C (littérature) = 176° (**84**)

II – 2 PREPARATION DE L'ACETHYL-2 BENZIMIDAZOLE : II



REACTIFS

Hydroxy-éthyl-2 benzimidazole (0,022 mole).....	3,5 g
Bichromate de potassium (0,01 mole).....	3 g
Acide acétique.....	30 ml
Eau distillée.....	10 ml

MODE OPERATOIRE

A une solution d'acide acétique contenant 3,5 g (0,022 mole) d'hydroxy-éthyl-2 benzimidazole, sont additionnés 3g de bichromate de potassium dissous dans 10ml d'eau distillée.

Le mélange est ensuite chauffé à reflux pendant 45 minutes .

Après refroidissement, puis neutralisation par de l'ammoniaque le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau puis séché .

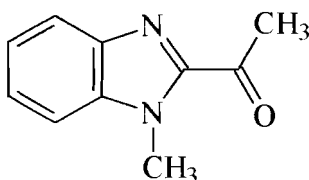
- Rendement : 50%
- Recristallisation : Eau
- F°C = 188-189° ; F°C (littérature) = 188° **(84)**

ANALYSE ELEMENTAIRE

C₉H₈N₂O ; P.M = 160,16

	C	H	N	O
Calculée % :	67,49	5,02	17,48	9,98
Trouvée % :	67,75	4,87	17,49	9,73

II – 3 PREPARATION DE L'ACETHYL-2 METHYL-1 BENZIMIDAZOLE : III



*** METHODE A (31, 85)**

REACTIFS

Acétyl-2 benzimidazole (0,015 mole).....	2,4 g
Sulfate de méthyle (0,016 mole).....	2 g (2,5 à 3 ml)
Soude 20%.....	30 ml

MODE OPERATOIRE

A une solution aqueuse de soude à 20% refroidie dans un bain d'eau glacée et contenant 2,4 g d'acétyl-2 benzimidazole, sont additionnés goutte à goutte et sous agitation, 2,5 à 3 ml de sulfate de méthyle . Après 20 minutes d'agitation, le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis séché à la température ambiante .

- Rendement : 57%
- Recristallisation : Ethanol - Eau
- F°C = 72-73° .

* METHODE B

REACTIFS

Acétyl-2 benzimidazole (0,015 mole).....2,4 g
Hydruide de sodium 60% (0,015 mole).....0,6 g
Iodure de méthyle (0,015 mole).....2,13 g (5 ml)
Diméthylsulfoxyde.....30-40 ml

MODE OPERATOIRE

A une solution de 2,4 g d'acétyl-2 benzimidazole dans du diméthylsulfoxyde refroidie dans un bain d'eau glacée, est additionné par petites portions 0,6 g d'hydruide de sodium.

Au mélange à nouveau refroidi, sont additionnés goutte à goutte et sous agitation, 5 ml d'iodure de méthyle. L'agitation est maintenue encore pendant 4 heures. Après quoi, le mélange réactionnel est versé dans 200 ml d'eau glacée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis séché à la température ambiante .

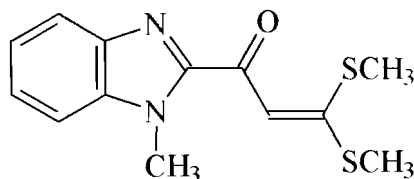
- Rendement : 62%
- Recristallisation : Ethanol - Eau
- F°C = 73-74° ; F°C (littérature) = 73° (85)

ANALYSE ELEMENTAIRE

$C_{10}H_{10}N_2O$, 3/2H₂O ; P.M = 201,21

	C	H	N	O
Calculée % :	59,69	5,00	13,92	19,86
Trouvée % :	60,02	4,80	13,70	19,92

II – 3 PREPARATION DE LA BISTHIOMETHYL-3,3 (METHYL-1 BENZIMIDAZOLYL-2)-1 PROPENE 2- ONE-1: IV



REACTIFS

Acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole (0,015 mole).....	2,6 g
Hydru de sodium 60% (0,030 mole).....	1,2 g
Sulfure de carbone (0,015 mole).....	1,14 g (1,5 à 2 ml)
Iodure de méthyle (0,030 mole).....	4,26 g (10 ml)
Diméthylsulfoxyde	

*** METHODE A**

MODE PREPARATOIRE

A une suspension d'hydru de sodium (0,03 mole) dans 50ml de diméthylsulfoxyde, sont additionnés sous agitation pendant 15 à 20 minutes, 2,6 g d'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole en solution dans 100 ml de diméthylsulfoxyde. Après un temps de contact de 5 minutes, le mélange est refroidi vers 8-10° C ; puis sont ajoutés goutte à goutte 2 ml de sulfure de carbone en solution dans du diméthylsulfoxyde. L'agitation est maintenue encore pendant 45 minutes. Après quoi, sont additionnés goutte à goutte et sous agitation vers 8-10°, 10 ml d'iodure de méthyle. Après 4 heures d'agitation à la température ambiante, le mélange réactionnel est versé dans 300 ml d'eau glacée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis séché .

- Rendement : 40%
- Recristallisation : dioxanne - eau
- F°C = 122-123°

*** METHODE B**

MODE OPERATOIRE

A une solution de 2,6 g d'acétyl-2 méthyl-1 benzimidazole dans 40 ml de diméthylsulfoxyde et refroidie vers 8°-10°C, sont additionnés 1,5 ml de sulfure de carbone. Tout en maintenant la température vers 8°-10°C, sont ensuite ajoutés par petites portions et sous agitation, 1,2 g d'hydru de sodium.

Après 4 heures de contact, le mélange réactionnel est à nouveau refroidi vers 8-10° puis, sont additionnés goutte à goutte toujours sous agitation, 2 ml d'iodure de méthyle. L'agitation est maintenue encore pendant 12 heures à 24 heures.

Après quoi, le mélange réactionnel est versé par petites portions et sous agitation dans 400 ml d'eau glacée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis séché.

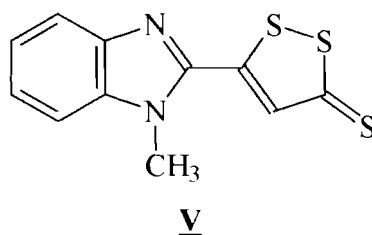
- Rendement :
 - *après 12 heures d'agitation : 70%
 - *après 24 heures d'agitation : 85%
- Recristallisation : dioxanne-eau
- F°C = 122-123°.

ANALYSE ELEMENTAIRE

C₁₃H₁₄N₂OS₂, H₂O ; P.M = 296,38

	C	H	N	O	S
Calculée % :	52,63	5,43	9,45	10,76	21,63
Trouvée % :	52,61	5,79	9,07	10,49	20,20

II – 3 PREPARATION DE LA (METHYL-1 BENZIMIDAZOLYL-2)-5 DITHIOLE-1,2 THIONE-3:



REACTIFS

Bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1 (0,0036 mole)..... 1 g
 Pentasulfure de phosphore (0,022 mole)..... 5 g
 Xylène anhydre.....300 ml

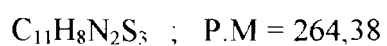
MODE OPERATOIRE

A une suspension de pentasulfure de phosphore dans 50 ml de xylène bouillant, sont additionnés goutte à goutte pendant 45 minutes et sous agitation, 250 ml d'une solution xylénique de bisthiométhyl-3,3 (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-1 propène-2 one-1.

Après quoi, l'agitation est maintenue encore pendant 15 à 20 minutes. Après refroidissement, le précipité formé est essoré, lavé à l'isopropanol puis séché .

- Rendement : 93%
- recristallisation : Acétone
- F°C = 254-255°

ANALYSE ELEMENTAIRE



	C	H	N	S
Calculée % :	49,97	3,04	10,59	36,38
Trouvée % :	49,95	3,13	10,06	35,70

**ETUDE PHARMACOLOGIQUE
ET
RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITE**

Avant propos

La (méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3 (produit V) dont nous nous sommes proposés l'étude pharmacologique, a fait l'objet

- d'une part d'une évaluation de sa toxicité sur des souris *suiss*
- et d'autre part, d'une recherche de son activité schistosomicide ou antibilharzienne potentielle *in vivo* vis à vis du couple *Schistosoma mansoni* - souris après 45 jours de traitement et comparativement à l'OLTIPRAZ, médicament de référence.

L'entretien des souches de laboratoire de *Schistosoma mansoni* a été effectué à l'unité Inserm U-167 de LILLE F-59 sous la direction de Monsieur le Professeur A. CAPRON .

La détermination de l'activité schistosomicide *in vivo* vis à vis de *Schistosoma mansoni*, a été réalisée dans le Laboratoire Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de LILLE sous la direction de Monsieur le Professeur Stéphane DEBLOCK .

Nous ne rapportons dans ce travail que les méthodes et résultats des essais définitifs tels qu'ils ont été fournis par ce laboratoire .

I - ETUDE TOXICOLOGIQUE

L'étude toxicologique préliminaire réalisée sur 2 lots de souris *swiss*, composés chacun de 3 souris, a consisté à administrer aux animaux le produit V aux doses respectives de 150 mg/kg per os et 300 mg/kg per os, en une fois par gavage . La durée de l'observation a été de 34 jours.

II - EVALUATION DE L'ACTIVITE SCHISTOSOMICIDE

Pour l'évaluation de l'activité schistosomicide, il a été fait appel à la méthode de déviation de l'oogramme décrite par PELLIGRINO et KATZ (86,87).

II - 1 PRINCIPE

Le principe consiste à traiter des souris parasitées par des schistosomes et à observer l'action helminthicide éventuelle sur les parasites adultes et l'action anthelminthique sur la fonction de ponte des femelles. Une substance active fait refluer les vers adultes des veines mésentériques vers le foie (c'est le shift hépatique) et suspend les pontes ou en altère momentanément la production. Dès lors, prédomineront dans la sous muqueuse intestinale les oeufs émis avant traitement qui ont eu le temps d'achever leur maturation d'une durée approximative de sept jours.

Dans la pratique, des souris adultes de sexe mâle, de 20 g minimum et de souche *swiss* sont infestées selon le mode opératoire suivant : l'animal endormi est immobilisé sur le dos, dans une gouttière de contention. Un dépôt de 0,8 cm³ de l'émulsion de cercaires, dans l'eau de gîte est réalisé sur la peau du ventre préalablement rasée.

La pénétration naturelle, transcutanée par 100 furcocercaires de *Schistosoma mansoni* par animal est obtenue par un contact de 30 minutes. Cette souche est entretenue à l'unité Inserm U-167 de LILLE F-59.

Au 50^{ème} jour de l'infestation, les animaux reçoivent par gavage gastrique 150 mg/kg per os des composés à tester en suspension aqueuse à 5% de gomme adragante.

Le protocole d'autopsie de chaque souris est le suivant : dans un premier temps, les anses intestinales et leur mésentère sont observées aux faibles grossissements d'une loupe binoculaire pour dénombrer les couples de parasites et préciser leur situation plutôt périphérique (veines mésentériques) ou plutôt centrale (tronc porte).

Dans un second temps, le foie est comprimé entre deux lames de verres jusqu'à écrasement pour permettre de la même façon le dénombrement des couples de vers, unis ou dissociés, situés au sein des veines hépatiques.

L'activité du produit à tester a été déterminée sur un lot de souris parasitées. Les résultats sont comparés à ceux d'un lot témoin constitué de souris bilharziennes, les unes non traitées et les autres traitées par l'OLTIPRAZ, administré per os aux doses thérapeutiques convenables.

II - 2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le protocole de mise en oeuvre est le suivant :

1°/ A J₀.

Infestation des souris par voie transcaudale naturelle au moyen d'une densité estimée de 100 furcocercaires par animal de sexe mâle.

2°/ A J₄₁.

a°/ Examen d'un lot de souris témoins non traitées, de façon à estimer le succès de l'infestation (lot 1).

b°/ Traitement (T₀),

* d'un lot de souris par l'OLTIPRAZ, médicament actif de référence, à la dose de 150 mg/kg per os, en une fois par gavage (lot 2).

* d'un lot de souris par le produit V, à la dose de 150 mg/Kg per os (1 dose), en une fois par gavage (lot 3).

3°/ A J₄₉.

Traitement après 7 jours (T₇), correspondant à une autopsie de :

a°/ 4 souris témoins infestées non traitées du lot 1

b°/ 3 souris du lot 2 traitées l'OLTIPRAZ

c°/ 5 souris du lot 3 traitées par le produit V

4°/ A J₆₁.

Traitement après 20 jours (T₂₀), correspondant à :

a°/ une autopsie des souris comme en 3°/ ;

* 7 souris du lot 1

* 5 souris du lot 2

* 7 souris du lot 3

b°/ la constitution d'un 4^{ème} lot de souris par la moitié restante des souris bilharziennes traitées par le produit V, puis à l'administration aux animaux par gavage gastrique, d'une dose de 90 mg/kg per os (2 doses) du même produit .

5°/ A J₇₁.

Traitement après 30 jours (T₃₀), correspondant à une autopsie de souris comme en 4°/ ,

a°/ 5 souris du lot 1

b°/ 5 souris du lot 2

c°/ 6 souris du lot 3

d°/ 5 souris du lot 4

6°/ A J₈₃.

Traitement après 42 jours (T₄₂), correspondant à une autopsie de toutes les souris survivantes des 4 lots à savoir :

a°/ 9 souris du lot 1

b°/ 10 souris du lot 2

c°/ 3 souris du lot 3

d°/ 6 souris du lot 4

Le total de souris témoins, de souris traitées par l'OLTIPRAZ, de souris traitées au produit V une fois, de souris traitées au produit V deux fois, est respectivement 34, 23, 21 et 11. Soit un total de 89 souris utilisables sur 100 souris mises en oeuvre dans l'essai. La différence de 11 souris est due soit à des souris ayant échappées à l'infestation, soit non autopsiées en temps voulu en raison de mortalité.

III - RESULTATS ET INTERPRETATION

III - 1 CONCERNANT L'EVALUATION DE LA TOXICITE DU PRODUIT V

L'essai préliminaire de toxicité du produit V réalisé sur 2 lots de souris *swiss*, composés chacun de 3 souris et aux doses respectives de 150 mg/kg per os et 300 mg/kg per os en une fois par gavage, n'a révélé, sur une durée d'observation de 34 jours, aucun effet d'intoxication aiguë à courte échéance ni d'effet retardé révélablé à l'autopsie.

Le produit V de synthèse semble être bien supporté par les souris dans les 2 cas de figure à savoir à 150 mg/kg per os et à 300 mg/kg per os, en une fois par gavage gastrique.

III - 2 CONCERNANT L'EVALUATION DE L'ACTIVITE SCHISTOSOMICIDE POTENTIELLE DU PRODUIT V

Les résultats expérimentaux rassemblés dans le **tableau 1** (cf page 43) et exprimant, par rapport au nombre de souris autopsiées dans chaque lot, le nombre moyen de vers adultes par hôte retrouvés à l'autopsie, appellent l'analyse suivante :

- l'OLTIPRAZ, médicament actif de référence entraîne d'une part, un déplacement (ou shift) des vers périphériques (c'est à dire au niveau des anses intestinales) vers les veines hépatiques à partir du 20^{ème} jour du traitement (T₂₀), une mortalité des schistosomes adultes parfaitement observable aux autopsies par une altération du parenchyme des parasites sous forme d'un éclaircissement du corps et une immobilité à 37°C après extraction des tissus et, d'autre part une diminution nette du nombre des oeufs pondus dans les tissus du tube digestif et du foie de la souris. Cette diminution de la ponte résulte sans doute de la baisse de la charge parasitaire, du moins à priori.

- à T₂₀, l'autopsie de 7 souris du lot 3 traitées avec le produit V, montre un nombre moyen de vers adultes par hôte autopsié de 9 vers ; ce qui constitue une augmentation de la moyenne de vers par rapport d'une part, à la moyenne de vers du même lot à T₇ et d'autre part, à celle du médicament actif de référence, l'OLTIPRAZ (m = 14 vers à T₇ et 5 vers à T₂₀). Le produit V ne donne donc pas lieu à un shift hépatique. L'augmentation de la charge parasitaire observée serait consécutive, au moins à priori, à la non suspension des pontes d'oeufs voire à une non altération momentanée de leur production.

- la seconde dose du produit V administrée à T₂₀ à une partie des souris bilharziennes du lot 3 dès le constat d'un effet inférieur à celui de l'OLTIPRAZ, ne semble pas avoir amélioré l'effet thérapeutique, dans les limites du temps de l'expérience tout au moins. En effet à T₃₀ et T₄₂, le nombre moyen de vers adultes par hôte retrouvés à l'autopsie des souris du lot 4 est en augmentation. Elle est de 3,6 vers et 7,6 vers respectivement à T₃₀ et à T₄₂.

De tels résultats montrent que le produit de synthèse V n'a pas entraîné un déplacement de la population des parasites vers le foie ; celle-ci demeure en périphérie ; la capacité de ponte des vers reste inaltérée.

TABLEAU I

EVALUATION DES ACTIVITES SCHISTOSOMICIDES PRODUIT V VERSUS OLTIPRAZ

	A J ₄₁ = T ₀		B J ₄₉ = T ₇		C J ₆₁ = T ₂₀		D J ₇₁ = T ₃₀		E J ₈₃ = T ₄₂		F TOTAL
	n	m	n	m	n	m	n	m	n	m	
LOT 1 Souris témoins	9		4		7		5		9		34
LOT 2 Souris OLTIPRAZ		13	3		23		15,5		9		4,6
LOT 3 Souris PRODUIT V 1 dose			5		14		7		5		6,5
LOT 4 Souris PRODUIT V 2 doses					6		9		10		3
							5		6		3,6
									3,6		7,6

Les colonnes de A à F correspondent aux autopsies des souris des lots 1, 2, 3 et 4 avec :
n = nombre des souris autopsiées dans chaque lot,
m = nombre moyen de vers adultes par hôte retrouvés à l'autopsie .

IV- RELATION STRUCTURE-ACTIVITE

Pour ce qui est des Relations entre structure et activité, nous nous sommes limités à la seule discussion des résultats expérimentaux rapportés. L'examen de ceux-ci appelle l'analyse suivante :

- le produit de référence à savoir l'OLTIPRAZ [**Figure 1**], tiens son activité schistosomicide au cours de sa biotransformation à la suite de la formation de deux types de complexe :

- un complexe Thiyle-Glutathion [**Figure 10**] consécutif à l'ouverture du noyau dithiolique et,

- un complexe Pyrazinopyrrole-Glutathion [**Figure 11**] par suite d'une cyclisation de la dithiole-thione avec l'hétérocycle pyrazinique

Un tel processus de biotransformation de l'OLTIPRAZ, serait nécessaire voire indispensable à l'apparition et au maintien de l'activité schistosomicide (**25, 74 à 77**) .

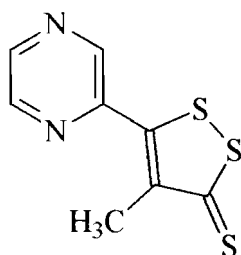
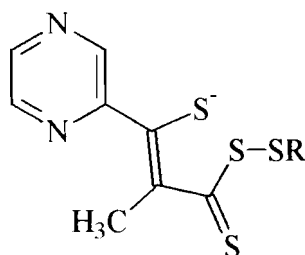


FIGURE 1



R = Glutathion

FIGURE 10

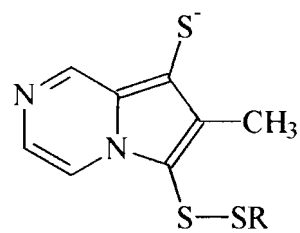


FIGURE 11

- quant à notre produit **V** [**Figure 3**], il ne donnerait pas lieu à la formation d'un hypothétique complexe de type Benzimidazo-pyrrole ; ce qui expliquerait très certainement, son inactivité vis à vis des schistosomes.

- de plus, la N-méthylation de l'azote en position 1 du vecteur benzimidazolique [**Figure 3**], serait défavorable de façon générale, à l'apparition d'une activité anthelminthique potentielle, si l'on se réfère à la structure des composés benzimidazoliques anthelminthiques proposés en thérapeutique, en l'occurrence le THIABENDAZOLE.

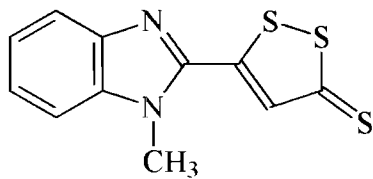
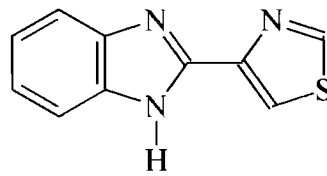


FIGURE 3



THIABENDAZOLE

CONCLUSION

Le présent travail, qui s'inscrit dans le cadre de nos activités de recherche, et dont la réalisation a été facilitée grâce à la collaboration des Laboratoires de Chimie Thérapeutique et de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de LILLE, avait pour objectif la synthèse et l'étude parasitologique d'une nouvelle molécule à structure dithiole-1,2 thione-3.

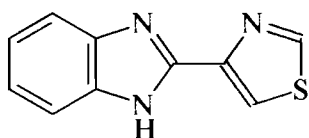
Dès lors, nous nous sommes inspirés du modèle de l'OLTIPRAZ et avons choisi d'optimiser la synthèse de la dithiole-1,2 thione-3 à vecteur benzimidazolique à savoir la **(méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3**. Celle-ci a été préparée à partir de la bis-méthylthiopropène correspondante, et isolée de façon particulière à l'encontre des autres méthodes d'isolement des dithiole-thiones rapportées dans la littérature.

Par son profil chimique non encore décrit et pouvant être considéré comme analogue tant du THIABENDAZOLE que de l'OLTIPRAZ, la **(méthyl-1 benzimidazolyl-2)-5 dithiole-1,2 thione-3** que nous avons préparée, devrait se révéler être, selon nous, un schistosomicide non négligeable et donner lieu à une molécule médicamenteuse nouvelle dans l'arsenal thérapeutique relativement pauvre des antibilharziens de synthèse.

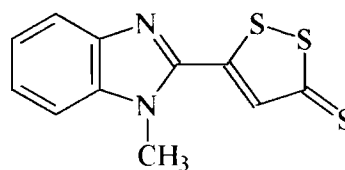
Les résultats des essais *in vivo* relatifs à la mise en évidence de l'activité antibilharzienne du produit **V** se sont malheureusement avérés décevants.

Dès lors, des études comparées de corrélation Structure - Activité entreprises par nous, ont pu montrer que la modification de la structure de la molécule de base par suite d'une méthylation de l'atome d'azote du vecteur benzimidazolique fait disparaître l'activités anthelminthique potentielle.

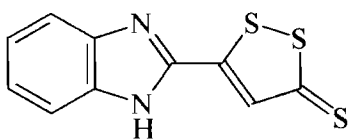
Aussi, nous nous sommes proposés de poursuivre nos investigations dans le but d'une part d'étudier, à l'instar du THIABENDAZOLE, l'activité nématocide de notre produit **V** et d'autre part, de préparer l'analogue non méthylé à l'azote **VI** ainsi que son vinylogue **VII**, en supposant que ceux-ci pourraient posséder eux aussi, des propriétés anthelminthiques non négligeables compte tenu de leur profil chimique comparable à celui du THIABENDAZOLE.



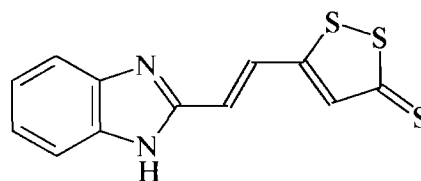
THIABENDAZOLE



V



VI



VII

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - B. BOTTCHER et A. LUTTRINGHAUS
Ann. Chem., 1947, 557 : 89.
- 2 - O. GAUDIN et R. POTTIER
C.R. Acad. Sci., 1947, 224 : 479.
- 3 - O. GAUDIN et N. LOZAC'H
C.R. Acad. Sci., 1947, 224 : 577.
- 4 - N. LOZAC'H
C.R. Acad. Sci., 1947, 225 : 686.
- 5 - LEROY J.-P., BARREAU M., COTREL Cl., JEANMART Cl., MESSER M. et BENAZET F.
Current Chemotherapy, 1978, 148 - 150.
- 6 - GENTILINI M., BRUCKER C., DANIS M., NIEL G. et CHARMOT G.
Soc. Path. exot., 1979, 72 (5 - 6) : 466 - 471.
- 7 - WOEHRLE R. et Coll.
Congrès de Chimiothérapie de Boston, Oct. 1979.
- 8 - R. PIERON, B. LESOBRE, Y. MAFART et F. LANCASTRE
Med. Trop., 1980, 40 (3) : 302 - 311.
- 9 - M. GENTILINI, B. RICHARD, D. LENOBLE
Acta Trop., 1980, 37 : 271 - 274.
- 10- J.P. COULAUP, J. CENAC, A.M. DELUOL, E. KARSENTY et C. CHARMOT
Med. Mal. Infec., 1981, 12 (11) : 671 - 674.
- 11- P. KERN, G.D. BURCHARD, M. DIETRICH
Tropen. Med. Parasit., 1984, 35 : 95 - 99.
- 12- S.A. CARVALHO, AMATO NETO
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 1986, 28 : 271 - 271.
- 13- MOREL F., GUILLOUZO A. (dir.)
Thèse (Rennes), 1992, 12 : 186.
- 14- DIMITROV N.V., BENETT J.L., MC MILAN J., PERLOFF M., LEECE C.M., MALONE W.
Investigational new drugs, 1992, 4 (10) : 289 - 298.
- 15- MOREL F., FARDEL O., MEYER D.J., LANGOUET S., GILMORE K.S., MEUNIER B., TU C.P.D., KENSLER T.W., KETTERER B., GUILLOUZO A.
Cancer Research, 1993, 2 (53) : 231 - 234.
- 16- MOON R.C., RAO K.V.N., DETRISAC C.J., KELLOFF G.J., STEELE V.E., DOODY L.A.
Int. J. Oncol., 1994, 4 (3) : 661.
- 17- RAO C.V., RIVENSIO A., KATIWALLA M., KELLOFF G.J., REDDY B.S.
Cancer Res., 1993, 53 (11) : 2502.
- 18- KENSLER T., STYZYNSKI P., GROOPMAN J., HELZISOUER K., CURPHEY T., MAXUITENKO Y., ROEBUCK B.D.
J. Cell. Biochem., 1992, 50 (suppl 7) : 167.
- 19- CLAPPER M.L., EVERLEY L.C., ENGSTROM P.F.
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1993, 34 : Abst 3272.
- 20- MEYER D.J., HARRIS J.M., GILMORE K.S., COLES B., KENSLER T.W., KETTERER B.
Carcinogenesis, 1993, 14 (4) : 567.
- 21- PROCHASKA H.J., YEH Y., BARON P., POLSKY B.
9th Int. Conf. AIDS / 4th STD World Cong. (June 6-11, Berlin), 1993 : Abst P0 - A25 - 0573.
- 22- PROCHASKA H.J., YEH Y., BARON P., POLSKY B.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90 (9) : 3953.

- 23- BUEDING E., DOLAN P., LEROY J.P.
Res. Commun. in Chem. and Pharmacol., 1982, 37 : 293 - 303.
- 24- BIEDER A., DECOUVELAERE B., CAILLARD C., DEPAIRE H., HEUSSE D., LEDOUX C., LEMAR M., LEROY J.P., RAYNAUD L., SNOZZI C. and GREGOIRE J.
Angew. Forsch. Drug. Res., 1983, 33 : 1289 - 1297.
- 25- MAURICE-BERNARD FLEURY
Ann. Pharm. Fr., 1992, 4 (50) : 183 - 197.
- 26- BARREAU M., COTREL C., JEANMART C.
Brevet français (Rhône-Poulenc-Industries), 760.360 H, 10 fév. 1972.
- 27- BARREAU M., COTREL C., JEANMART C., BRUNOY B.
U.S. Patent, 4110.450 : 1978.
- 28- KAYE B., WOOLHOUSE N.M.
Ann. Trop. Med. Parasitol., 1976, 70 : 323.
- 29- C. VACCHER, P. BERTHELOT, N. FLOUQUET, M. DEBAERT, J.L. BURGOT, M.LUYCKX, S.DEBLOCK, L. OUATTARA
Il Farmaco Ed. Sci., 1987, 6 : 397 - 407.
- 30- ABDALY F., VACCHER C., BERTHELOT P., DEBAERT M., LUYCKX M., DEBLOCK S.
Il Farmaco Ed. Sci., 1991, 46 (1) : 63 - 73.
- 31- A. KASSI, L. OUATTARA (dir.)
Thèse (Abidjan), 29 juin 1989.
- 32- H. ERDMANN
Liebigs Ann., 1908, 362 : 133.
- 33- R.S. SPRINDT, D.R. STEYENS et W.E. BALDWIN
J. Amer. Chem. Soc., 1951, 73 : 3693.
- 34- L. LEGRAND, Y. MOLLIER et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1953, 327.
- 35- J. TESTE et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1954 : 492.
- 36- L. BATEMAN, R.W. GLAZEBROOK et C.G. MOORE
J. Chem. Soc. (London), 1958 : 2846.
- 37- N. LOZAC'H et Y. MOLLIER
Bull. Soc. Chim. Fr., 1950 : 1243.
- 38- Y. MOLLIER
Bull. Soc. Chim. Fr., 1953 : 561.
- 39- N. LOZAC'H et Y. MOLLIER
Bull. Soc. Chim. Fr., 1959, 9 : 1389 - 1390.
- 40- N. LOZAC'H et M. DENIS
Bull. Soc. Chim. Fr., 1953, 20 : 1016 - 1017.
- 41- L. LEGRAND et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1956 : 1130.
- 42- L. LEGRAND
Thèse Caen, 1957.
- 43- L. LEGRAND
Bull. Soc. Chim. Fr., 1959, 10 : 1599 - 1606.
- 44- L. LEGRAND et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1955 : 79 - 83.
- 45- J. TESTE et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1955 : 437.

- 46- L. LEGRAND et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1959, 10 : 1686 - 1688.
- 47- P. RAOUL et J. VIALLE
Bull. Soc. Chim. Fr., 1959, 10 : 1670 - 1676.
- 48- C. KELBER
Bor., 1910 : 43, 1252.
- 49- C. KELBER et A. SCHWARZ
Bor., 1911 : 44, 1698.
- 50- C. KELBER et A. SCHWARZ
Bor., 1912 : 45, 137.
- 51- J.J. BLOOMFIELD
J. Org. Chem., 1961 : 26, 4112.
- 52- A. THUILLIER et J. VIALLE
Bull. Soc. Chim. Fr., 1959 : 9, 1398 - 1401.
- 53- A. THUILLIER et J. VIALLE
Bull. Soc. Chim. Fr., 1962, 2182 - 2186.
- 54- A. THUILLIER et J. VIALLE
Bull. Soc. Chim. Fr., 1962, 2187 - 2193.
- 55- A. THUILLIER et J. VIALLE
Bull. Soc. Chim. Fr., 1962, 2194.
- 56- M. SAQUET et A. THUILLIER
Bull. Soc. Chim. Fr., 1966, 1582.
- 57- Y. MOLLIER et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1960 : 4, 700 - 704.
- 58- Y. MOLLIER et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1963 : 1, 157 - 160.
- 59- N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1949, 840.
- 60- P.S. LANDIS, L.A. HAMILTON
J. Org. Chem., 1960 : 25, 1742.
- 61- H. QUINIOU et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1963 : 6, 1167 - 1171.
- 62- H. BEHRINGER et R. WIEDENMANN
Tetrah. Let., 1965 : 41, 3705.
- 63- D.B.J. EASTON et D. LEAVER
Chem. Commun., 1965 : 22, 285.
- 64- J. VIALLE, DAVY H., M. DEMUYNCK, D. PAQUER et A. ROUESSAC
Bull. Soc. Chim. Fr., 1966, 1150.
- 65- PORTAIL C.
Thèse de Doctorat es-Sciences Physiques. Caen. 1967.
- 66- MAIGNAN J. et VIALLE J.
Bull. Soc. Chim. Fr., 1973, 1973.
- 67- MARIA DE NAZARETH VIANA
Thèse pour le Doctorat de 3^e cycle en Pharmacie. Lille, 28 oct. 1983.
- 68- A. SCHÖNBERG, M.N. SIDKY et G. AZIZ
J. Amer. Chem. Soc., 1954 : 76, 5115.
- 69- H. QUINIOU et N. LOZAC'H
Bull. Soc. Chim. Fr., 1958 : 4, 517 - 518.
- 70- H. QUINIOU
Bull. Soc. Chim. Fr., 1960 : 1, 47 - 48.

- 71- G. CHARMOT
Med. Mal. Infect., 1980 ; 12 (10), 722 - 723.
- 72- H. BELLA, A RAHIM
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1982 ; 31, 775 - 778.
- 73- FRAPPIER F., AZOULAY M., LEROY J.P.
Biochem. Pharmacol., 1988 ; 37, 2864.
- 74- FLEURY M.B., LARGERON M., MARTENS T.
Biochem. Pharmacol., 1991 ; 41, 361.
- 75- HALD J., JACOBSEN E.
Lancet, 1948 ; 1001.
- 76- STROMME J.H.
Biochem. Pharmacol., 1963 ; 12, 157.
- 77- DIETRICH R.A., GENE ERVIN V.
Mol. Pharmacol., 1971 ; 7, 301.
- 78- J. SEUBERT, R. POHLKE
Experientia, 1977 ; 33, 1036 - 1037.
- 79- WOOL HOUSE N.M., KAYE B.
Parasitol., 1977 ; 75, 111.
- 80- R. PIERON, Y. MAFART, B. LESOBRE, M. GRIVAUX, F. LANCASTRE
Thérapie ; 1984 ; 39 ; 167 - 176.
- 81- R. PIERON, B.LESOBRE, Y.MAFART, D. MEYNIEL, F. LANCASTRE, A. RENARD, J. SIMON, J. GREGOIRE, P. BASSET
Rev. Med. Interne, 1981 ; 2, 231 - 237.
- 82- HEUSSE D., MARLARD M., BREDENBAC J., DECOUVELAERE B., LEROY J.P., BIEDER A., JUMEAU H.
Arzneim. Forsch. Drug. Res., 1985 ; 35, 1431 - 1436.
- 83- P. BARABE, J.P. DE LAJUDIE, J.P. PERROT
Med. Trop., 1980 ; 3 (40), 265 - 269.
- 84- Brevet anglais 885.520 GEIGY A.G.
C.A. 1961 ; 57, 7428 e.
- 85- B. SERAFIN, E. SZYMANOWSKA
Roczniki Chem 99. Ann. Soc. Chem. Poloniarum, 1975 ; 49, 791-798.
- 86- PELLIGRINO J.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1962 ; 11, 201.
- 87- PELLIGRINO J., KATZ N.
Adv. in Parasitology, 1968 ; 6, 233.