

Synthèse et propriétés pharmacologiques de quelques thiéno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one 2-thiones

A Cannito¹, M Perrissin¹, C Luu-Duc^{1*}, F Huguet², C Gaultier², G Narcisse²

¹Laboratoire de Chimie Pharmacie, URA CNRS n° 1287, UFR de Pharmacie, Université Joseph-Fourier Grenoble I, F-38706 La Tronche Cedex;

²Institut du Médicament de Tours, rue Joseph-Cugnot, BP 253, 33702 Saint Pierre des Corps, Cedex, France

(Reçu le 20 avril, 1989; accepté le 26 novembre, 1989)

Résumé — Des thiéno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one 2-thiones diversement substituées ont été synthétisées. Elles ont été essayées, ainsi que leurs intermédiaires de synthèse, les thiénylthiourées, comme analgésiques et anti-inflammatoires. Tous ces composés (sauf un) sont dépourvus de toxicité à 1000 mg/kg par voie ip. Certains possèdent des activités anti-œdémateuse et analgésique comparables à celles de l'acide acétylsalicylique pris comme produit de référence.

Summary — Synthesis and pharmacological activities of some 3-substituted thienopyrimidin-4-one-2-thiones. The condensation of substituted 2-amino-3-carbethoxy-thiophenes with methyl, ethyl and phenyl isothiocyanate yields the corresponding thiénylthiourreas which cyclize in ethanol saturated with dry hydrochloric acid to form 3-substituted thieno [2,3-*d*]pyrimidin-4-(3*H*)-one-2-thiones. Thirty-five compounds, 21 thiénylthiourreas and 14 thienopyrimidin-4-one-2-thiones have been screened for their analgesic and anti-inflammatory activities. The ip administration of these products at a dose of 1000 mg/kg shows that they are not toxic (one excepted). Some compounds show analgesic and anti-inflammatory activities equivalent to those of acetylsalicylic acid.

thiénylthiourreas / thiéno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one-2-thiones / analgésic / anti-inflammatoire

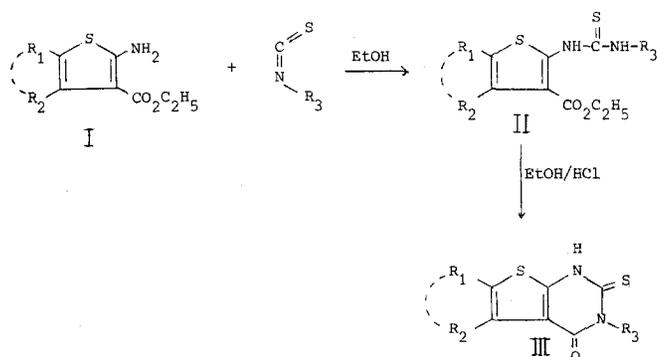
Introduction

L'importance thérapeutique des thiéno[2,3-*d*]pyrimidines [1–4] nous a incités à synthétiser divers analogues à groupes actifs. Les ortho-amino éthoxycarbonyl thiophènes se prêtent à de telles synthèses: nous en avons réalisé quelques-unes au cours de nos travaux précédents [5, 6]. Dans ce travail, nous décrivons la cyclisation de ces dérivés thiophéniques en présence d'isothiocyanates. L'introduction d'un groupement thioxo sur le cycle de la pyrimidone permet l'obtention de composés à activité pharmacologique potentielle dont quelques-uns sont déjà connus [7, 8]. Les thiéno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one 2-thiones et leurs intermédiaires de synthèse, les thiénylthiourées, ont été essayées dans le domaine des analgésiques et des anti-inflammatoires.

Chimie

La littérature offre différentes méthodes de synthèse [8–10] des thiéno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one 2-thiones à partir

d' α,β -aminoesters. Nous avons d'abord appliqué la méthode de cyclisation directe décrite par Ram *et al* [10]. Les premiers essais réalisés avec l'isothiocyanate de méthyle n'ont pas permis l'obtention des composés attendus avec un rendement satisfaisant. Nous avons donc mis en œuvre un autre procédé [8]; il nécessite deux étapes:



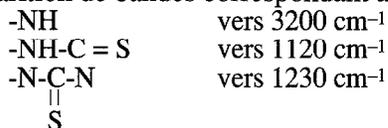
*Correspondance et tirés à part

Les 2-amino thiophènes substitués **I** sont d'abord condensés avec l'isothiocyanate de méthyle, d'éthyle ou de phényle, par chauffage à reflux, en milieu éthanolique. La structure des thiénylthiourées correspondantes **II** est confirmée par l'analyse centésimale et par l'étude des spectres IR et RMN du proton.

En infra-rouge:

— disparition des deux bandes de valence du groupe amine primaire (3400 et 3300 cm^{-1}),

— apparition de bandes correspondant à:



En RMN ^1H : apparition du signal correspondant au substituant de l'isothiocyanate (méthyle, éthyle, ou phényle).

La cyclisation des thiénylthiourées **II** a lieu à reflux en milieu éthanolique saturé par l'acide chlorhydrique. La précipitation des pyrimidones **III** est amorcée en

cours de réaction et achevée ensuite à -5°C . La cyclisation est mise en évidence:

— en spectroscopie de RMN ^1H , par la disparition des signaux correspondant à la fonction ester;

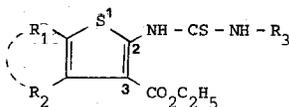
— en spectroscopie IR, par l'apparition de la bande d'absorption du cycle pyrimidinique vers 1000 cm^{-1} .

En ce qui concerne la structure des thiénylthiourées, on peut envisager l'équilibre tautomérique suivant:



Les spectres IR des composés synthésés ne présentent aucune bande dans la zone comprise entre 2590 et 2550 cm^{-1} , correspondant à la fonction SH. Les composés existent donc exclusivement sous la forme thioxo.

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques des thiénylthiourées **II**.



$R_1 R_2$	$R_3 = \text{CH}_3$				$R_3 = \text{C}_2\text{H}_5$				$R_3 = \text{C}_6\text{H}_5$			
	Code	Tps de reflux	F°C (litt.) solvant recryst.	Rdt%	Code	Tps de reflux	F°C (litt.) solvant recryst.	Rdt%	Code	Tps de reflux	F°C (litt.) solvant recryst.	Rdt%
$-(\text{CH}_2)_3-$	1	24h	184	87	8	24h	199(200-2) [8] dioxane	60	15	3h	173(183-5) [8]	72.5
$-(\text{CH}_2)_4-$	2	18h	191(193-5) [8] EtOH- CHCl_3	67	9	6h	162(161-4) [8]	64	16	6h	188(184-7) [8] dioxane	65
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-(\text{CH}_2)_3- \end{array}$	3	16h	155	81	10	6h	115	69	17	8h	164 EtOH- CHCl_3	53.5
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2- \end{array}$	4	6h	184 EtOH- CHCl_3	59.5	11	24h	154	42	18	6h	182 EtOH- CHCl_3	71
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2- \end{array}$	5	17h	184 EtOH- CHCl_3	66	12	15h	158 lavage EtOH	93	19	15h	190 EtOH- CHCl_3	94
$-(\text{CH}_2)_5-$	6	23h	152 EtOH- CHCl_3	80	13	24h	118 EtOH	68.5	20	6h	154 EtOH- CHCl_3 EtOH	24
$\left[\begin{array}{l} R_1 = \text{H} \\ R_2 = \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} \right]$	7	16h	143	62.5	14	24h	140	58	21	6h	185 EtOH- CHCl_3	31.5

Résultats

Les résultats pharmacologiques sont rassemblés dans les tableaux III et IV.

Toxicité aiguë

Les dérivés étudiés sont dépourvus de toxicité chez la Souris. A la dose de 1000 mg/kg par voie ip, ils n'induisent aucune mortalité des animaux à l'exception de la thiénylthiourée **20** qui entraîne une mortalité de 20%. La symptomatologie toxique consiste en une diminution de l'activité motrice et une prostration. La létalité survient par arrêt respiratoire après bradypnée initiale. Dans les mêmes conditions expérimentales, la dose létale 50 de l'acide acétylsalicylique (AAS) est de 485 mg/kg [11], la dose de 1000 mg/kg étant 100 % mortelle.

Activité anti-inflammatoire

Les thiénylthiourées substituées **3**, **10**, **18** et **21** présentent une activité anti-œdémateuse significative et

comparable à celle de l'ASS. Il en est de même pour les thiénylpyrimidones substituées **22**, **23**, **24**, **26**, **28**, **32** et **38**. L'activité de l'ASS est sensiblement identique dans les 5 séries d'essais.

Activité analgésique

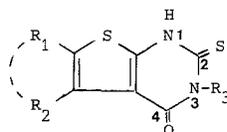
Les dérivés **3**, **6**, **10**, **17** et **24** sont analgésiques au temps 60 min. Leur activité est voisine de celle de l'AAS à l'exception du composé **24** qui est significativement plus actif ($P < 0.05$, test U de Mann et Whitney [16]).

Le dérivé **10** demeure analgésique 2 h après administration et les produits **11**, **12**, **13**, **22**, **23**, **26** et **39** ne sont actifs qu'à ce deuxième temps de mesure. Dans tous les cas, l'effet analgésique enregistré n'est pas significativement différent de celui de l'AAS. Les dérivés **3**, **10**, **22**, **23**, **24** et **26** exercent un effet à la fois anti-inflammatoire et analgésique.

Conclusion

Mis à part le composé **20**, les thiénylthiourées et les thiénylpyrimidones substituées sont dépourvues de

Tableau II. Caractéristiques physico-chimiques des thiénylpyrimidones substituées III.



R ₁ R ₂	R ₃ = CH ₃			R ₃ = C ₂ H ₅			R ₃ = C ₆ H ₅		
	Code	F°C(litt.) solvant reconst.	Rdt%	Code	F°C(litt.) solvant reconst.	Rdt%	Code	F°C(litt.) solvant reconst.	Rdt%
-(CH ₂) ₃ -	22	322 déc. AcOH-CHCl ₃ -EtOH	35.5						
-(CH ₂) ₄ -	23	309 (298-301) [8] AcOH-CHCl ₃ -EtOH	62.5	30	258 (259-261) [8] AcOH	43	37	338 (315 déc.) [8]	60.5
⁵ -CH-(CH ₂) ₃ - CH ₃	24	226 AcOH	79	31	232-4 EtOH	36	38	319 AcOH	51
⁶ -CH ₂ -CH-(CH ₂) ₂ - CH ₃	25	280 lavage EtOH	93	32	263 AcOH	38	39	340 AcOH	58.5
-(CH ₂) ₂ - ⁷ CH ₃ -CH ₂ -	26	290 lavage EtOH	90	33	256-7 EtOH	61			
-(CH ₂) ₅ -	27	265 EtOH-CHCl ₃	50	34	262 EtOH-CHCl ₃	73			
$\left[\begin{array}{l} R_1 = H \\ R_2 = C_6H_5 \end{array} \right.$	28	298 AcOH-CHCl ₃ -EtOH	75	35	265 AcOH	70.5			

Tableau III. Propriétés pharmacologiques des thiénylthiourées II.

AAS: acide acétylsalicylique
 • $P < 0.05$ } test t
 •• $P < 0.02$ } de Dunnett
 ▲ $P < 0.05$ } test U
 ▲▲▲ $P < 0.01$ } de Mann et
 ▲▲▲▲ $P < 0.001$ } Whitney

Dérivés	Toxicité aiguë 1000mg/kg i.p. Mortalité %	Activité anti- inflammatoire Réduction de l'œdème %	Activité analgésique	
			60 mn après traitement Augmentation seuil algique %	120 mn après traitement Augmentation seuil algique %
AAS	100	38▲▲▲	177▲	147
1	0	8	161	103
2	0	0	131	0
3	0	47▲▲▲▲	223▲	75
4	0	13	77	0
5	0	1	0	0
6	0	0	207▲	97
7	0	2	0	0
AAS	100	39	247**	219*
8	0	33	116	196
9	0	39	105	204
10	0	45*	379**	300**
11	0	12	63	273**
12	0	16	95	261**
13	0	12	168	281**
14	0	0	63	173
AAS	100	34**	129▲	100
15	0	26	0	92
16	0	6	14	0
17	0	7	95▲	85
18	0	29*	0	61
19	0	2	24	8
20	20	15	57	0
21	0	45**	0	15

Tableau IV. Propriétés pharmacologiques des thiénoypyrimidones substituées III.

AAS: acide acétylsalicylique
 • $P < 0.05$ } test t
 •• $P < 0.02$ } de Dunnett
 ▲ $P < 0.05$ } test U
 ▲▲ $P < 0.02$ } de Mann et
 ▲▲▲ $P < 0.01$ } Whitney

Dérivés	Toxicité aiguë 1000mg/kg i.p. Mortalité %	Activité anti- inflammatoire Réduction de l'œdème %	Activité analgésique	
			60 mn après traitement Augmentation seuil algique %	120 mn après traitement Augmentation seuil algique %
AAS	100	33▲▲▲	175▲	336▲
22	0	33▲▲	75	343▲▲▲
23	0	29▲	275	586▲
24	0	31▲▲	462▲▲	129
25	0	5	63	129
26	0	32▲▲▲	0	500▲▲
27	0	22	125	157
28	0	32▲▲	0	143
AAS	100	40**	83	675▲▲
30	0	17	0	212
32	0	34*	0	675
33	0	9	0	263
34	0	10	0	0
35	0	21	22	212
38	0	35**	0	125
39	0	29	9	625▲▲

toxicité après administration unique. Quatre thiénylthiourées (3, 9, 10, 21) et 7 thiénoypyrimidones (22, 23, 24, 26, 28, 32, 38) sont douées d'activité anti-œdémateuse. Six thiénylthiourées (3, 6, 10, 11, 12, 13) et 6 thiénoypyrimidones (22, 23, 24, 26, 32, 39) sont analgésiques. Les 2 thiénylthiourées 3 et 10 et les 4 thiénoypyrimidones 22, 23, 24 et 26 possèdent une activité à la fois anti-œdémateuse et analgésique égale ou supérieure à celle de l'acide acétylsalicylique. A noter que tous les dérivés possédant le substituant $R_1R_2 = -\text{CH}(\text{CH}_2)_3-$
 CH_3

sont anti-œdémateux et/ou analgésiques.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les températures de fusion non corrigées ont été déterminées selon la méthode du tube capillaire à l'aide de l'appareil Buchi avec bain d'huile. Les spectres IR sont réalisés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 1310, en pastille de KBr. Les spectres de RMN ^1H sont enregistrés sur un appareil Bruker AC 200 avec le TMS comme référence interne et CDCl_3 ou $\text{DMSO}-d_6$ comme solvant. Les analyses centésimales des composés synthétisés sont conformes aux normes exigées et ne figurent pas dans ce mémoire.

Synthèse des thiénylthiourées II

A 0,01 mol de 2-amino thiophène substitué dissous dans 10 ml d'éthanol à 95°C, est ajoutée goutte à goutte, 0,01 mol d'isothiocyanate dissous dans 2 ml d'éthanol à 95°C. Le mélange est porté à reflux pendant 3–24 h. Après refroidissement, le précipité est isolé et recristallisé, s'il y a lieu, dans un solvant approprié utilisé souvent en quantité importante (voir tableau I).

Synthèse des thiénoypyrimidones substituées III

Une suspension de 0,01 M de thiénylthiourée dans 50 ml d'éthanol absolu saturé par l'acide chlorhydrique gazeux sec est portée à reflux pendant 24 h sous agitation. On laisse ensuite précipiter 12 h à -5°C. Le produit brut est filtré, lavé à l'eau et recristallisé si besoin dans un solvant approprié (voir tableau II). Certaines thiénoypyrimidones, difficiles à solubiliser, ont été recristallisées dans des mélanges de solvants utilisés en grande quantité.

Pharmacologie

L'étude pharmacologique a été réalisée par voie digestive chez la souris Swiss mâle âgée de 6–8 semaines et provenant de l'élevage Iffa Credo (Les Oncins, 69210 l'Arbresle). Les essais ont été effectués sur des lots de 10 animaux, à l'exception de la détermination de la toxicité aiguë conduite par voie intra-péritonéale (ip) sur des lots de 5 souris. Les produits, mis en suspension dans une solution de gomme arabique à 3% ont été administrés sous un volume de 0,5 ml pour 20 g de poids corporel. La substance de référence, pour tous les essais, est l'acide acétylsalicylique (AAS).

Toxicité aiguë

Elle est étudiée par voie ip, la durée d'observation est de 15 jours. Tous les produits sont administrés à la dose unique de 1 000 mg/kg.

Activité anti-inflammatoire

L'œdème podal à la carragénine permet l'étude des phases initiales d'une inflammation aiguë selon les méthodes décrites par Winter *et al* chez le Rat [12] et par Lévy chez la Souris [13]. Les activités d'un anti-inflammatoire sur ce test et en thérapeutique sont généralement bien corrélées [14]. La méthode de Lévy est appliquée à des lots de 10 souris, les traitements (250 mg/kg) étant administrés par voie digestive, 30 min avant l'injection dans l'aponévrose d'une patte postérieure de 0.025 ml d'une solution aqueuse de carragénine à 1%. Les animaux sont sacrifiés par élongation sous anesthésie (mélange éther-chloroforme 10%) 4 h après le début de l'essai, les pattes postérieures coupées à la hauteur de l'articulation tarsocrurale et pesées. L'étude est réalisée en 5 essais avec 2 lots témoins et un lot AAS à chaque essai. L'activité anti-inflammatoire est exprimée en pourcentage de réduction de l'œdème par rapport aux animaux témoins ne recevant que le seul agent phlogogène. L'étude statistique de chaque essai est réalisée en comparant les moyennes par le test *t* de Dunnett [15] ou le test *U* de Mann et Whitney [16] selon les résultats du test de l'homogénéité des variances.

Activité analgésique

La méthode retenue est celle décrite par Ben-Bassat *et al* [17] ou 'tail immersion test' chez la Souris. Elle consiste à mesurer le temps d'apparition d'un mouvement de fouet de la queue consécutif à l'immersion de celle-ci dans un bain d'eau à 58°C. L'essai est appliqué à des lots de 10 souris, avant le traitement puis 60 et 120 min après administration par voie digestive (250 mg/kg). Comme précédemment, l'étude est menée en 5 fois, 2 lots témoins et un lot AAS. L'activité analgésique est déterminée par la différence du délai d'apparition du mouvement de fouet de la queue par rapport à la mesure avant traitement. Elle est exprimée en pourcentage d'augmentation par rapport au lot témoin. L'étude statistique est effectuée en comparant les moyennes des écarts de temps entre les mesures avant et les mesures après traitement. Elle est réalisée à l'aide du test *t* de Dunnett [15] ou du test *U* de Mann et Whitney [16] selon les résultats du test de l'homogénéité des variances.

Remerciements

Les auteurs remercient Laurence Barre pour son excellente assistance technique.

Références

- 1 Manhas MS, Sharma SD, Amin SG (1972) *J Med Chem* 15, 106–107
- 2 Nakanishi M, Shiraki M (1972) Brevet japonais n° 734227; (1973) *Chem Abstr* 78, 29795j
- 3 Temple DL, Yevich JP, Covington RR, Hanning CA, Seidehamel RJ, Mackey HK, Bartek MJ (1979) *J Med Chem* 22, 505–510
- 4 Fortea J (1973) *Afinidad* 30, 225–229; (1973) *Chem Abstr* 79, 105175v
- 5 Perrissin M, Favre M, Luu-Duc C, Bakri-Logeais F, Huguet F, Narcisse G (1984) *Eur J Med Chem* 19, 420–424
- 6 Perrissin M, Favre M, Luu-Duc C, Huguet F, Gaultier C, Narcisse G (1988) *Eur J Med Chem* 23, 453–456
- 7 Sauter F (1972) Brevet allemand n° 2210503; (1972) *Chem Abstr* 77, 16475n
- 8 Devani MB, Shishoo CJ, Pathak US, Parikh SH, Shah GF, Padhya AC (1976) *J Pharm Sci* 65, 660–664
- 9 Khripak SM, Dobosh AA, Smolanka IV (1973) *Chem Heterocycl Comp* 525–526
- 10 Ram VJ, Pandey HK, Vlietinck AJ (1981) *J Heterocycl Chem* 18, 1277–1280
- 11 Perrissin M, Luu-Duc C, Narcisse G, Bakri-Logeais F, Huguet F, (1980) *Eur J Med Chem* 15, 413–418
- 12 Winter CA, Risley EA, Nuss GW (1962) *Proc Soc Exp Biol Med* 111, 544–547
- 13 Lévy L (1969) *Life Sci* 8, 601–606
- 14 Winter CA (1965) *Anti-Inflammatory Testing Methods: Comparative Evaluation of Indomethacin and other Agents*. Excerpta Medica Int Congr Ser n° 82, 190–202
- 15 Dunnett CW (1964) *Biometrics* 20, 482–491
- 16 Mann HB, Whitney DR (1947) *Ann Math Stat* 18, 50–60
- 17 Ben-Bassat J, Peretz E, Sulman FG (1959) *Arch Int Pharmacodyn* 122, 434–447