

Article original

Synthèse et propriétés pharmacologiques de quelques thiénoypyrimidones-4 substituées

Monique PERRISSIN¹, Marylène FAVRE¹, Cuong LUU DUC^{1*}, François HUGUET², Chantal GAULTIER² et Guy NARCISSE²

¹Groupe de Pharmacochimie, Equipe de Recherche recommandée, Université Joseph-Fourier Grenoble, UFR de Pharmacie, 38700 La Tronche, et

²Institut du Médicament de Tours, rue Joseph-Cugnot, B.P. 253, 37702 Saint-Pierre-des-Corps Cédex, France

(Reçu le 23 mars 1988, accepté le 6 juin 1988)

Résumé — Deux séries de thiéno[2,3-*d*]pyrimidones-4 substituées sont synthétisées et essayées pour leurs propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. La plupart des 18 composés synthétisés sont très peu toxiques. Quelques-uns possèdent des activités analgésique et anti-inflammatoire voisines de celles de l'acide acétylsalicylique.

Summary — **Synthesis and pharmacological activities of some substituted thienopyrimidine-4-ones.** The synthesis of two series of substituted thieno[2,3-*d*]pyrimidine-4-ones is described. Analgesic and anti-inflammatory properties of these 18 compounds were investigated. Most of them showed very low toxicity. Seven compounds exhibited significant analgesic activity, six compounds displayed an anti-inflammatory activity. Some possessed both effects at levels close to those exhibited by acetylsalicylic acid.

thieno[2,3-*d*]pyrimidine-4-ones / analgesic / anti-inflammatory

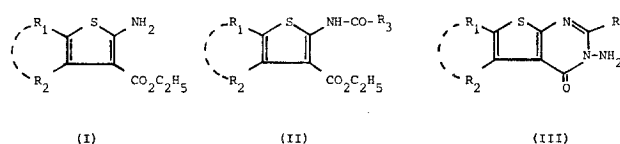
Introduction

Du fait de leur forte potentialité pharmacologique, les thiénoypyrimidones sont largement étudiées. Certaines d'entre elles possèdent des propriétés: anti-inflammatoire [1, 2], anti-allergique [3], dépressive du système nerveux central [2] ou sédative [4]. Poursuivant nos travaux sur la cyclisation des *ortho* amino éthoxycarbonyl thiophènes [5], nous nous sommes proposés de synthétiser deux séries de thiénoypyrimidones-4 substituées, encore peu explorées et d'en étudier les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques.

Chimie

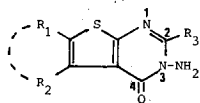
Amino-3 thiéno[2,3-*d*]pyrimidones-4 substituées

Les amino-2 éthoxycarbonyl-3 thiophènes **I** préparés selon la méthode de Gewald [6] sont acylés par l'anhydride acétique ($R_3 = CH_3$) ou le chlorure de phénacétyle ($R_3 = CH_2-C_6H_5$) (Tableau I). Les amides correspondants **II** sont cyclisés en thiénoypyrimidones **III** par chauffage à reflux avec l'hydrate d'hydrazine [7].



La structure des dérivés obtenus a été confirmée par l'analyse centésimale et par l'étude des spectres IR et RMN du proton. En infra rouge: présence: 1) de 2 bandes vers 3200 et 3300 cm^{-1} (NH_2); 2) d'une bande intense vers 1660 cm^{-1} ($C=O$); 3) d'une bande vers 1000 cm^{-1} (cycle pyrimidine). En RMN: tous les spectres présentent entre autres signaux: A. pour la série possédant le substituant CH_3 : 1) un singulet entre 2,65 et 2,67 ppm (CH_3); 2) un singulet entre 4,86 et 4,91 ppm (NH_2); B. pour la série possédant le substituant $CH_2-C_6H_5$: 1) un singulet entre 4,77 et 4,80 ppm (NH_2); 2) un singulet entre 4,32 et 4,38 ppm (CH_2); 3) un multiplet entre 7,20 et 7,35 ppm (C_6H_5).

*Auteur à qui la correspondance doit être adressée.

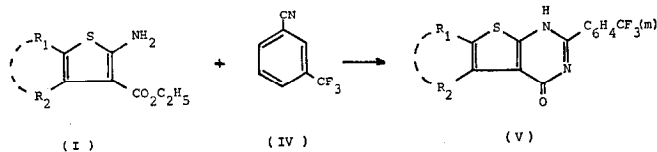
Tableau I. Amino-3 thiéno[2,3-*d*]pyrimidones-4 substituées.

R ₁ R ₂	R ₃ = CH ₃				R ₃ = CH ₂ C ₆ H ₅		
	Composé	F °C	Rdt %	F °C (lit.)	Composé	F °C	Rdt %
-(CH ₂) ₃ -	1	198	41	202 (8)	7	208	37
-(CH ₂) ₄ -	2	184	65	140 (7)	8	200	50
⁵ CH ₂ - ⁶ CH-(CH ₂) ₂ - CH ₃	3	166	44		9	178	30
-(CH ₂) ₂ - ⁷ CH-CH ₂ - CH ₃	4	164	35,5		10	160	43
-(CH ₂) ₅ -	5	184	41		11	174	60
R ₁ = H R ₂ = C ₆ H ₅	6	190	27	192 (7)	12	120	36,5

^aRendement calculé à partir des dérivés *N*-acylés.

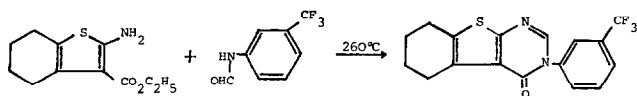
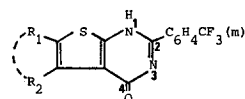
Thiéno[2,3-*d*]m-trifluorométhylphényl-2 pyrimidones-4

La condensation des *ortho* amino-esters avec un nitrile (acétonitrile, benzonitrile, etc.) en milieu acide, permet l'accès à des thiénoypyrimidones-4 substituées en position 2. Cette réaction a été mise à profit en faisant réagir le *m*-trifluorométhylbenzonitrile IV sur les amino-2 éthoxy-carbonyl-3 thiophènes I [9].



Le degré d'avancement de la réaction de cyclisation est suivi en spectroscopie IR par la disparition de deux bandes vers 3400–3300 cm⁻¹ correspondant à NH₂ et par l'apparition de deux bandes: l'une intense vers 1680 cm⁻¹ (C=O), l'autre vers 1000 cm⁻¹ (cycle pyrimidine).

D'autre part, comme la présence d'un atome de fluor dans la molécule rend les résultats de l'analyse centésimale très aléatoires et peu fiables, les thiénoypyrimidones obtenues V sont toutes identifiées par spectrométrie de masse: les résultats figurent dans le Tableau II. Elles sont toutes originales à notre connaissance. La littérature [10] mentionne la synthèse d'un isomère de position du composé 13 de point de fusion: 120–123°C.

**Tableau II.** Thiéno[2,3-*d*]m-trifluorométhylphényl-2 pyrimidones-4.

R ₁ R ₂	Composé	F °C	Rdt %	m/z (A %)
-(CH ₂) ₄ -	13	314	75	350,1 (100)
⁵ CH-(CH ₂) ₃ -	14	270	33	364,7 (78,5)
⁵ CH ₂ - ⁶ CH-(CH ₂) ₂ - CH ₃	15	314	81,5	364,1 (68,9)
-(CH ₂) ₂ - ⁷ CH-CH ₂ - CH ₃	16	320	66	364,1 (100)
-(CH ₂) ₅ -	17	323	80	364,3 (100)
R ₁ = H R ₂ = C ₆ H ₅	18	300	78	372,0 (100)

Résultats

Les résultats pharmacologiques sont rassemblés dans le Tableau III.

Tableau III. Résultats pharmacologiques.

Dérivés	Toxicité aiguë (1000 mg/kg) Mortalité %	Activité anti- inflammatoire Réduction de l'œdème	Activité analgésique	
			60 mn après traitement Augmentation seuil algique	120 mn après traitement Augmentation seuil algique
1	80	17	144 ²	38
2	60	15	139 ²	55 ²
3	0	42***	256 ³	1
4	40	20	12	2
5	0	33**	0	0
6	20	24	44	62
7	0	25*	26	0
8	0	17	30	0
9	0	36***	315 ⁴	70 ¹
10	0	22	88 ²	91 ¹
11	0	0	0	87
12	0	23	41	0
AAS	100	37***	44 ¹	424 ³
13	20	3	10	16
14	0	0	60	69
15	0	0	0	69
16	0	21	0	0
17	0	39***	133 ²	31
18	0	30*	34 ²	1
AAS	100	41***	146 ³	21

* p < 0,05

** p < 0,02

*** p < 0,01

**** p < 0,001

test "U" de
Mann et Whitney

1 p < 0,05

2 p < 0,02

3 p < 0,01

4 p < 0,001

test "T" de
Wilcoxon

^aMortalité %.

^bRéduction de l'œdème.

^cAugmentation de seuil algique.

Toxicité aiguë

Les dérivés étudiés exercent des effets toxiques peu marqués chez la Souris. La dose maximale tolérée est généralement supérieure à 1000 mg/kg i.p. sauf dans le cas des amino thiénoypyrimidones **1**, **2**, **4** et **6** et de la trifluorométhylphényl thiénoypyrimidone **13**. 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 léthale 50 de l'acide acétylsalicylique est de 485 mg/kg [11], la dose de 1000 mg/kg étant 100% mortelle.

Activité anti-inflammatoire

Les amino thiénoypyrimidones substituées **3**, **5**, **7** et **9** présentent une activité anti-œdémateuse significative et comparable à celle de l'acide acétylsalicylique (AAS). Il en est de même pour les deux trifluorométhylphényl thiénoypyrimidones **17** et **18**. L'activité de l'AAS est sensiblement identique dans les deux séries d'essais.

Activité analgésique

Dans la première série d'essais, les dérivés **1**, **2**, **3**, **9** et **10** sont analgésiques. Les pourcentages d'augmentation du seuil algique sont supérieurs à celui de l'AAS au temps 60 min. Les dérivés **2**, **9** et **10** demeurent encore actifs 2 h après leur administration avec un degré d'intensité inférieur à celui de la substance de référence excepté pour le composé **2**. A noter que les dérivés **3** et **9** qui sont des analogues structuraux exercent à la fois un effet anti-inflammatoire et analgésique. Dans la deuxième série d'essais, les produits **14**, **17** et **18** exercent un effet analgésique inférieur ou égal à celui de l'AAS 1 h après administration. Toutefois, cet effet n'est significatif que pour les dérivés **17** et **18**. Ces deux trifluorométhylphényl thiénoypyrimidones sont aussi seules responsables d'un effet anti-inflammatoire.

Conclusion

Mis à part les dérivés **1**, **2**, **4**, **6** et **13**, les thiénoypyrimidones-4 substituées sont dépourvues de toxicité après administration unique. Sept sont douées d'activité analgésique et six d'activité anti-inflammatoire. Les deux amino-thiénoypyrimidones **3** et **9** possèdent à la fois une activité analgésique et une activité anti-inflammatoire à 60 min au moins égales à celles de l'acide acétylsalicylique. Les deux trifluorométhylphényl thiénoypyrimidones **17** et **18** présentent aussi ces deux propriétés à un degré inférieur ou égal à celui de la substance de référence.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les points de fusion ont été déterminés selon la méthode du tube capillaire à l'aide de l'appareil Gallenkamp MF-350 ou de l'appareil Büchi avec bain d'huile. Les spectres IR sont réalisés sur spectro-

photomètre Beckman Acculab IV, en pastille de KBr. Les spectres de RMN ^1H sont enregistrés sur appareil Bruker AC 200 avec le tétraméthylsilane comme référence et CDCl_3 comme solvant. Les spectres de masse sont enregistrés sur un appareil MS-30 double faisceau. Les analyses centésimales, conformes aux normes exigées, ne figurent pas dans ce mémoire.

Amino-3 thiéno[2,3-d]pyrimidones-4 substituées III

Synthèse des dérivés N-acylés II. A 0,01 mol d' amino-2 thiophène I sont ajoutés, goutte à goutte et sous agitation, 3 ml d'anhydride acétique ou 2 ml de chlorure de phénacétyle (léger excès). La réaction est fortement exothermique. Après 1 h de contact, le mélange est placé au froid pendant 24 h. L'excès d'anhydride ou de chlorure est alors détruit par l'eau et le précipité recristallisé dans l'éthanol à 95°C.

Condensation des dérivés N-acylés avec l'hydrate d'hydrazine III [7]. Le dérivé N-acylé (0,01 mol) dissous dans 25 ml d'éthanol à 95°C est chauffé à reflux avec 10 ml d'hydrate d'hydrazine pendant 6—8 h. Le précipité formé est recristallisé dans l'éthanol ou dans un mélange éthanol—chloroforme (cf. Tableau I).

Thiéno[2,3-d]m-trifluorométhylphényl-2 pyrimidones-4 [9]

Après solubilisation des amino-2 thiophènes dans le chloroforme, le m-trifluorobenzonitrile est ajouté en excès. Le mélange reste en contact sous un courant d'acide chlorhydrique gazeux pendant 2 h. Le résidu est recristallisé dans l'acide acétique glacial (cf. Tableau II). Tous les composés obtenus présentent une fluorescence à 254 et 366 nm.

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 intrapéritonéale (i.p.) 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 i.p. chez la souris mâle, la durée d'observation est de 15 jours. Tous les produits sont administrés à la dose unique de 1000 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 mâles, 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 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 2 essais (essai n° 1, essai n° 2) 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 est réalisée en comparant les moyennes par le test *U* de Mann et Whitney [15] avec les significativités suivantes: **p* < 0,05; ***p* < 0,02; ****p* < 0,01; *****p* < 0,001.

Activité analgésique

La méthode retenue est celle décrite par Ben-Bassat *et al.* [16] 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 (25 mg/kg). Comme précédemment, l'étude est menée en 2 fois, 2 lots témoins et un lot AAS. L'activité analgésique est exprimée en pourcentage d'augmentation du délai

d'apparition du mouvement de fouet de la queue par rapport aux mesures avant traitement. La comparaison des moyennes est effectuée par le test T de Wilcoxon [17] avec les significativités suivantes: $^1p < 0,05$; $^2p < 0,02$; $^3p < 0,01$; $^4p < 0,001$.

Remerciement

Les auteurs remercient Pascal Huet pour son excellente assistance technique.

Références

- 1 Manhas M. S., Sharma S. D. & Amin S. G. (1972) *J. Med. Chem.* 15, 106—107
- 2 Nakanishi M. & Shiraki M. (1972) Brevet japonais 734227; (1973) *Chem. Abstr.* 78, 29795j
- 3 Temple D. L., Yevich J. P., Covington R. R., Hanning C. A., Seidehamel R. J., Mackey H. K. & Bartek M. J. (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 Gewald K., Schinke E. & Bottcher H. (1966) *Chem. Ber.* 99, 94—100
- 7 Patronato de Investigacion Cientifica y Technica Juan de la Cierva y Laboratorios Made, S.A. (1972) Brevet espagnol 371373; (1973) *Chem. Abstr.* 79, 92269b
- 8 Gewald K. & Hofmann I. (1969) *J. Prakt. Chem.* 311, 402—407
- 9 Gakhar H. K., Singh P. M., Madan A. & Kumar N. (1978) *Indian J. Chem.* 16B, 940—942
- 10 Schellhase M., Bohm R. & Pech R. (1984) *Pharmazie* 39, 19—21
- 11 Perrissin M., Luu-Duc C., Narcisse G., Bakri-Logeais F. & Huguet F. (1980) *Eur. J. Med. Chem.* 15, 413—418
- 12 Winter C. A., Risley E. A. & Nuss G. W. (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111, 544—547
- 13 Lévy L. (1969) *Life Sci.* 8, 601—606
- 14 Winter C. A. (1965) dans: *Anti-inflammatory Testing Methods: Comparative Evaluation of Indomethacin and Other Agents*. Excerpta Medica International Congress Series No. 82, pp. 190—202
- 15 Mann H. B. & Whitney D. R. (1947) *Ann. Math. Stat.* 18, 50—60
- 16 Ben-Bassat J., Peretz E. & Sulman F. G. (1959) *Arch. Int. Pharmacodyn.* 122, 434—447
- 17 Wilcoxon F. (1945) *Biometrics Bull.* 1, 80—83