

Synthèse et activité hypo-uricémiant de nouvelles ptéridines

G Ferrand¹, H Dumas¹, J Decerprit²

¹Centre de recherche LIPHA, département de chimie, 115, avenue Lacassagne, 69003 Lyon;

²Centre de recherche LIPHA, département de biochimie, 115, avenue Lacassagne, 69003 Lyon, France

(Reçu le 4 juin 1991; accepté le 29 octobre 1991)

Summary — **Synthesis of new pteridines as hypouricemic agents.** A series of new pteridines and 3,4-dihydropteridines with substitution in position 2, showed a hypouricemic activity in rats. After a single oral administration in this species, the hypouricemic effect of 2-(methoxymethoxymethyl)-3,4-dihydropteridine maleate **26b** and 2-(2,2,2-trifluoroethoxymethyl)-3,4-dihydropteridine maleate **32b** is as potent as that of 1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ol (allopurinol). We showed a long-lasting fall of uricemia in further investigation of compound **26b**; this fall can reach 80%. Compound **26b**, unlike allopurinol, is not an *in vitro* xanthine oxidase inhibitor, but the *ex vivo* inhibition could be proved. It could be useful in the treatment of gout in human beings.

pteridines / hypouricemia / xanthine oxidase

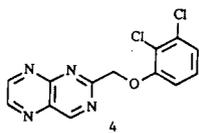
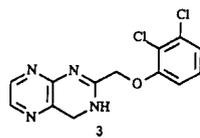
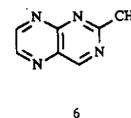
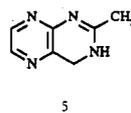
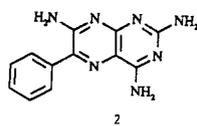
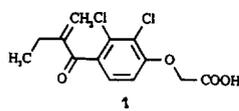
Introduction

Dans le cadre d'un programme de recherche de nouveaux composés diurétiques économiseurs de potassium, nous avons associé l'enchaînement 2,3-dichlorophénoxy-méthyle caractéristique de la famille de l'acide [2,3-dichloro-4-(2-méthylène-1-oxobutyl)phénoxy]acétique **1** (acide éthacrinique) [1] à un système ptéridinique que l'on retrouve dans la 6-phényl-2,4,7-triaminoptéridine **2** (triamtérène) [2]. Le premier composé synthétisé, la 2-(2,3-dichlorophénoxy-méthyl)-3,4-dihydroptéridine **3**, n'a pas présenté la propriété diurétique espérée; cependant, il a révélé une activité hypo-uricémiant. Le programme de recherche a été étendu autour de cette molécule **3**, tant du point de vue chimique que du point de vue pharmacologique. Le présent mémoire décrit la synthèse et l'étude pharmacologique de dérivés du composé **3**, ainsi que de sa forme oxydée 2-(2,3-dichlorophénoxy-méthyl)ptéri-

dine **4**. Quelques substituants ont été introduits en position 1, 3, 4, 6 et 7 de ces ptéridines et quelques déazaptéridines ont été préparées, mais les modulations structurales à partir des molécules **3** et **4** ont surtout concerné la partie 2,3-dichlorophénoxy-méthyle.

Chimie

Si les ptéridines ont été largement étudiées, notamment les ptéridines substituées en position 6, dérivées de l'acide folique [3, 4], il n'en est pas de même des ptéridines substituées par une chaîne carbonée en position 2, dont très peu sont décrites dans la littérature. A Albert et K Ohta [5, 6] ont synthétisé en particulier la 2-méthyl-3,4-dihydroptéridine **5** et la 2-méthylptéridine **6**.



Nous avons obtenu des 3,4-dihydroptéridines substituées en position 2 de formule **7**, en condensant la 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazine **8** sur un imidate d'alcoyle **9** selon le schéma 1.

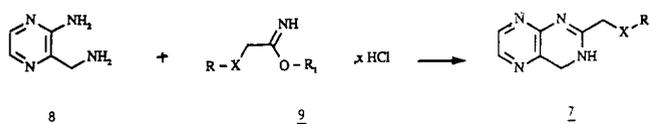
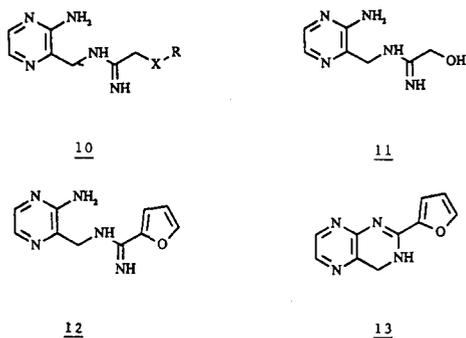


Schéma 1.

L'originalité de nos composés **7** réside dans le contenu du substituant $\text{CH}_2\text{-X-R}$ en position 2. Celui-ci comporte un hétéroatome X, principalement l'oxygène, mais aussi le soufre, ou un groupe SO_2 ou NH , à l'intérieur d'une chaîne carbonée. C'est de loin, sur le groupe terminal R, que nous avons effectué le plus grand nombre de variations.

Les imidates d'alcyle **9** ($\text{R}_1 = \text{Me, Et ou Bu}$) ont été choisis de préférence aux orthoesters utilisés par A Albert et K Ohta [5, 6] en raison de leur accessibilité plus aisée. Ils sont préparés à partir des nitriles correspondants, indifféremment en milieu acide selon les conditions dites de Pinner [7] ou en milieu basique selon la méthode de FC Schaefer et GA Peters [8]. La réaction décrite dans le schéma 1 passe très vraisemblablement par l'intermédiaire des amidines de formule **10** dont la mise en évidence a été faite dans le cas particulier de la N-[(3-aminopyrazin-2-yl)méthyl]-2-hydroxyacétamidine **11**. Ce mécanisme a été confirmé également par l'isolement de la N-[(3-aminopyrazin-2-yl)méthyl]furane-2-carboxamidine **12** dans la synthèse de la 2-(2-furyl)-3,4-dihydroptéridine **13**.



Les synthèses des 3,4-dihydroptéridines **7** se font selon les méthodes décrites en partie expérimentale, soit en utilisant le chlorhydrate d'une imidate **9** ($x = 1$ ou 2, méthode A), soit en utilisant un imidate **9** sous forme de base ($x = 0$, méthode B).

Les caractéristiques physiques des composés de formule **7** sont consignées dans le tableau I. Les rendements indiqués sont ceux obtenus souvent lors de réactions uniques et il n'a pas été procédé à leur optimisation.

Les 3,4-dihydroptéridines peuvent être oxydées par le dioxyde de manganèse en présence d'oxyde de baryum, comme décrit par A Albert et K Ohta [5, 6], pour donner des ptéridines **14** selon le schéma 2: c'est la méthode C (tableau II).

Les variations de structure ont consisté ensuite à introduire des substituants méthyle, phényle ou méthoxy dans les positions 1, 3, 4, 6 ou 7 des 3,4-dihydroptéridines **7** (composés **73** à **79**). Le groupe méthylène du substituant $\text{CH}_2\text{-X-R}$ a été homologué (composé **80**) ou substitué (composés **81** et **82**). L'obtention de ptéridines substituées en position 2 par un groupe furyle ou tétrahydrofuryle a permis d'étudier des formes cyclisées de ce substituant $\text{CH}_2\text{-X-R}$ (composés **83** et **84**). Enfin, nous avons remplacé le noyau pyrazinique de la ptéridine par un noyau pyridinique (composés **85** à **88**). Les caractéristiques de ces composés **73** à **88** sont rassemblées dans le tableau III. Leurs synthèses se font également selon les méthodes décrites ci-dessus et sont explicitées en partie expérimentale.

Pharmacologie, résultats et discussion

L'effet hypo-uricémiant de ces nouvelles ptéridines a été recherché chez le rat. L'acide urique contenu dans le sérum est dosé de façon enzymatique, 4 h après le traitement par le produit testé, selon le protocole décrit en partie expérimentale.

Le composé **4b** (maléate du composé **4**) nous a servi de référence lors de chaque essai. Pour les produits les plus actifs, nous avons déterminé une dose efficace 50 (DE_{50}), dose capable d'abaisser l'uricémie de 50%. Les résultats obtenus figurent dans les tableaux I-III.

Relations structure-activité

L'évolution structurale à partir du composé **4b**, nous a permis d'apprécier l'influence des divers substituants sur l'activité hypo-uricémiante. La 2-méthyl-3,4-dihydroptéridine **5** préparée par A Albert et K Ohta [5, 6] n'a été trouvée que faiblement active, et de façon non dose-dépendante. En effet, les composés les plus actifs ont la particularité de posséder un atome d'oxygène en position β de la chaîne carbonée liée en posi-

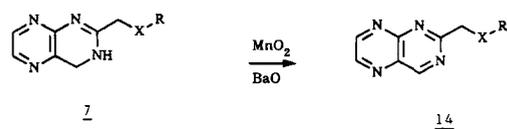
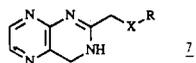


Schéma 2.

Tableau I. Structures, propriétés physiques et effets mesurés sur l'uricémie de rat des composés 7.



Composé	X	R-	Méthode	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse ^a	Effets mesurés sur l'uricémie de rat	
							Effet (%) ^b	DE ₅₀ (mg/kg)
4	O	2,3-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	A	52	201–203 ^e	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O	–	–
4b	O	2,3-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	–	–	157–158 ^f	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–50 ^{c*}	44 [36–58]
15	O	H-	A	13	197–199 ^g	C ₇ H ₈ N ₄ O	–34 ^{**}	89 [56–249]
16a	O	CH ₃ -	A	42	110–112 ^f	C ₈ H ₁₀ N ₄ O	–	–
			B	58				
16b	O	CH ₃ -	–	–	144–146 ^h	C ₈ H ₁₀ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–75 ^{**}	19 [11–27]
17	O	C ₂ H ₅ -	A	21	158–160 ^h	C ₉ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–56 ^{***}	36 [32–42]
18	O	(CH ₃) ₂ CH-	A	11	160–162 ^h	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–63 ^{**}	7,7 [5,5–11]
19	O	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -	B	54	162–164 ^h	C ₁₁ H ₁₆ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–36 ^{**}	39 [32–47]
20	O	(CH ₃) ₃ C-	A	41	175–176 ^h	C ₁₁ H ₁₆ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–20 ^{NS}	–
21	O	(CH ₃) ₃ CCH ₂ -	B	51	177–179 ^h	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–61 ^{**}	9,1 [4,5–14]
22	O	CH ₂ = CH-CH ₂ -	B	36	134–136 ^h	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–81 ^{***}	24 [19–30]
23	O	CH≡C-CH ₂ -	B	43	159–160 ^h	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–57 ^{***}	22 [16–32]
24	O	c-C ₃ H ₅ -CH ₂ -	B	52	149–151 ^h	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–62 ^{**}	35 [26–58]
25	O	c-C ₆ H ₁₁ -	B	52	170–172 ^h	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–50 ^{***}	52 [41–74]
26a	O	CH ₃ OCH ₂ -	B	62	120–122 ^f	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂	–62 ^{**}	17 [12–26]
26b	O	CH ₃ OCH ₂ -	–	–	145–147 ^h	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	–71 ^{**}	4,3 [3,0–6,8]
26c	O	CH ₃ OCH ₂ -	–	–	148–150 ^h	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂ , 2(EC ₄ H ₄ O ₄)	–59 ^{**}	4,5 [3,2–9,0]
26d	O	CH ₃ OCH ₂ -	–	–	h	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂ , HCl	–59 ^{**}	4,1 [3,1–5,3]
27	O	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ -	B	23	122–124 ^f	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	+13 ^{NS}	–
28	O	CH ₃ CH ₂ OCH ₂ -	B	28	124–126 ^f	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	–52 ^{***}	22 [17–27]
29	O	CH ₃ O-CH-CH ₃ CH ₃	B	26	142–144 ^h	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	–45 ^{***}	16 [12–21]
30	O	CH ₃ CH ₂ O-CH- CH ₃	B	8	121–123 ^f	C ₁₁ H ₁₆ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	–28 [*]	19 [16–22]
31	O	HOCH ₂ CH ₂ -	B	33	137–139 ^h	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂	+30 ^{NS}	–
32a	O	CF ₃ CH ₂ -	B	17	100–102 ⁱ	C ₉ H ₉ F ₃ N ₄ O	–62 ^{**}	–
32b	O	CF ₃ CH ₂ -	A	53	147–149 ^h	C ₉ H ₉ F ₃ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–76 ^{***}	3,5 [2,1–6,8]
33	O	(CF ₃) ₂ CH-	B	23	160–161 ^j	C ₁₀ H ₈ F ₆ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	–24 ^{NS}	–
34	O	CF ₃ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -	B	7	137–139 ^f	C ₁₁ H ₁₃ F ₃ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	–23 [*]	110 [85–173]

Tableau I. Suite.

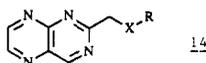
Composé	X	R	Méthode	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse ^a	Effets mesurés sur l'uricémie de rat	
							Effet (%) ^b	DE ₅₀ (mg/kg)
35	O	C ₆ H ₅ -	A	21	180–182 ^g	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-23*	-
36	O	2-Cl-C ₆ H ₄ -	A	8	163–164 ^g	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-27*	-
37	O	3-Cl-C ₆ H ₄ -	A	16	165–167 ^g	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-	30 [19–49]
38a	O	4-Cl-C ₆ H ₄ -	A	14	172–174 ^g	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₄ O	-	-
38b	O	4-Cl-C ₆ H ₄ -	-	-	174–175 ^k	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-31**	-
39	O	3-F-C ₆ H ₄ -	A	24	163–165 ^h	C ₁₃ H ₁₁ FN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-55**	15 [12–19]
40	O	2-CH ₃ -C ₆ H ₄ -	A	9	170–171 ^k	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+3 ^{NS}	-
41	O	3-CH ₃ -C ₆ H ₄ -	A	33	165–167 ^h	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-2 ^{NS}	-
42a	O	4-CH ₃ -C ₆ H ₄ -	A	15	166–168 ^h	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O	-	-
42b	O	4-CH ₃ -C ₆ H ₄ -	-	-	183–185 ^g	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-30**	-
43	O	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄ -	A	15	160–161 ^g	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-43*	41 [32–56]
44	O	3-CH ₃ O-C ₆ H ₄ -	A	7	182–184 ^e	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-11 ^{NS}	-
45a	O	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄ -	A	21	163–165 ^h	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂	-	-
45b	O	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄ -	-	-	171–173 ^h	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-19*	-
46	O	3-CF ₃ -C ₆ H ₄ -	A	17	178–180 ^h	C ₁₄ H ₁₁ F ₃ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-61***	19 [15–25]
47	O	3-[(CH ₃) ₂ N]-C ₆ H ₄ -	A	14	182–183 ^h	C ₁₅ H ₁₆ N ₅ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-6 ^{NS}	-
48	O	2,6-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	A	10	161–163 ^h	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-18 ^{NS}	-
49a	O	3,4-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	A	28	205–207 ^e	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O	-	-
49b	O	3,4-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	-	-	171–172 ^g	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-40**	-
50	O	3,5-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	A	23	168–170 ^k	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-47***	24 [16–31]
51	O	C ₆ H ₅ -CH ₂ -	B	34	152–154 ^g	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-63***	10 [2,9–19]
52	O	3-Cl-C ₆ H ₄ -CH ₂ -	B	56	155–157 ^h	C ₁₄ H ₁₃ ClN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-69**	10 [6,6–14]
53	O	4-Cl-C ₆ H ₄ -CH ₂ -	B	74	145–147 ^h	C ₁₄ H ₁₃ ClN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-48**	21 [13–28]
54	O	3-F-C ₆ H ₄ -CH ₂ -	B	37	149–151 ^h	C ₁₄ H ₁₃ FN ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-66***	20 [15–26]
55	O	4-CH ₃ -C ₆ H ₄ -CH ₂ -	B	37	158–160 ^h	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+4 ^{NS}	-
56	O	3,4-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -CH- CH ₃	B	30	149–151 ^l	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₂ N ₄ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-	-
57	O	C ₅ H ₉ O-(d)	B	8	145–147 ^h	C ₁₂ H ₁₆ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-47**	35 [27–48]
58	S	(CH ₃) ₂ CH-	B	28	158–160 ^h	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ S, ZC ₄ H ₄ O ₄	+11 ^{NS}	-
59	S	CF ₃ CH ₂ -	B	44	141–143 ^m	C ₉ H ₉ F ₃ N ₄ S, ZC ₄ H ₄ O ₄	-16 ^{NS}	-

Tableau I. Suite.

Composé	X	R	Méthode	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse ^a	Effets mesurés sur l'uricémie de rat	
							Effet (%) ^b	DE ₅₀ (mg/kg)
60	S	C ₆ H ₅ -	B	52	150–151 ^g	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ S, ZC ₄ H ₄ O ₄	+18 ^{NS}	–
61a	S	2,3-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	A	25	192–194 ^e	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ S	–	–
61b	S	2,3-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	–	–	160–162 ^g	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₄ S ZC ₄ H ₄ O ₄	–	–
62	S	C ₆ H ₅ -CH ₂ -	B	43	135–138 ^j	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ S	+5 ^{NS}	–
63	SO ₂	C ₆ H ₅ -	B	34	154–156 ^g	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	-5 ^{NS}	–
64	SO ₂	(CH ₃) ₂ CH-	B	39	157–159 ^h	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₂ S, ZC ₄ H ₄ O ₄	+6 ^{NS}	–
65	NH	C ₆ H ₅ -	B	25	193 ^g	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ , ZC ₄ H ₄ O ₄	+40 ^{NS}	–
66	NH	3-Cl-C ₆ H ₄ -	B	21	171–173 ^g	C ₁₃ H ₁₂ ClN ₅ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-14 ^{NS}	–
5			2-méthyl-3,4-dihydroptéridine				-28 ^{**}	Non dose dépendant

^aÉléments dosés: C, H, N, Cl, F, S; ^bvariation par rapport au lot témoin (codification de la probabilité statistique ^{NS} $P > 0,05$; $*P \leq 0,05$; $**P \leq 0,01$; $***P \leq 0,001$); ^cpourcentage théorique en rapport avec la DE₅₀ effectivement mesurée; ^dtétrahydropyran-2-yle; ^eéthanol-N,N-diméthylformamide; ^facétone; ^géthanol; ^hacétone-éthanol; ⁱacétone-éther isopropylique; ^jéthanol-éther éthylique; ^kN,N-diméthylformamide-éther éthylique; ^lacétone-éther éthylique; ^mméthanol-éther éthylique.

Tableau II. Structures, propriétés physiques et effets mesurés sur l'uricémie de rat des composés 14.



Composé	X	R	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse ^a	Effets mesurés sur l'uricémie de rat	
						Effet (%) ^b	DE ₅₀ (mg/kg)
67	O	2,3-Cl ₂ -C ₆ H ₃ -	27	158–160 ^c	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ N ₄ O	-34 ^{**}	–
68	O	CH ₃ -	39	130–131 ^d	C ₈ H ₈ N ₄ O	-49 [*]	43 [33–61]
69a	O	CH ₃ OCH ₂ -	31	51–53 ^e	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂	-69 ^{***}	9,8 [6,2–18]
69b	O	CH ₃ OCH ₂ -	–	78–80 ^d	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-36 ^{**}	20 [15–26]
70	O	CF ₃ CH ₂ -	50	58–60 ^e	C ₉ H ₇ F ₃ N ₄ O	-63 ^{**}	13 [7–17]
71	O	3-Cl-C ₆ H ₄ -CH ₂ -	48	84–86 ^e	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₄ O	-56 ^{**}	29 [23–37]
72	S	C ₆ H ₅ -	29	104–106 ^e	C ₁₃ H ₁₀ N ₄ S	+43 ^{***}	–

^aÉléments dosés: C, H, N, Cl, F, S; ^bvariation par rapport au lot témoin (codification de la probabilité statistique, $*P \leq 0,05$; $**P \leq 0,01$; $***P \leq 0,001$); ^céthanol-éther isopropylique; ^dacétone-éther isopropylique; ^eéther isopropylique.

Tableau III. Structures, propriétés physiques et effets mesurés sur l'uricémie de rat des composés 73 à 88.

Composé	Formule	Méthode	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse ^a	Effets mesurés sur l'uricémie du rat	
						Effets ^b	DE ₅₀ (mg/kg)
73		B	55	173–175 ^a	C ₁₄ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	+13% NS	
74		B	20	146–148 ^b	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-40%***	
75		B	23	209–211 ^a	C ₁₄ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	+50%***	
76		B	34	162–164 ^c	C ₁₉ H ₁₄ Cl ₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+15%NS	
77		B	18	170–172 ^c	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	+35%NS	
78		A	32	116–118 ^d	C ₉ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄ , H ₂ O	-15%NS	
79		B	37	155–157 ^e	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₃ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-17%NS	
80		A	20	123–125 ^d	C ₉ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	-2%NS	
81		B	50	142–144 ^d	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₂ ,	-47%***	64 [42–175]
82		A	22	177–179 ^f	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+20%NS	
83		—	36	145 ^d	C ₁₀ H ₈ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+45%**	

Tableau III. Suite.

Composé	Formule	Méthode	Rdt (%)	F (°C) solvant	Analyse (1)	Effets mesurés sur l'uricémie du rat	
						Effets (2)	DE ₅₀ (mg/kg)
84		B	20	154–156 ^d	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+27% ^{NS}	
85		A	34	182–184 ^g	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O, ZC ₄ H ₄ O ₄ , H ₂ O	+36%*	
86		B	46	132–134 ^h	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₂ , ZC ₄ H ₄ O ₄	-71%***	29 [22–47]
87		A	31	175–176 ⁱ	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O, ZC ₄ H ₄ O ₄	+4% ^{NS}	
88		B	41	160–162 ^j	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O	-5% ^{NS}	

^aÉléments dosés: C, H, N, Cl; ^bvariation par rapport au lot témoin (codification de la probabilité statistique: ^{NS}*P* > 0,05; **P* ≤ 0,05; ***P* ≤ 0,01; ****P* ≤ 0,001); ^aéthanol; ^béthanol-éther isopropylique; ^cacétone; ^dacétone-éthanol; ^eacétone-éther éthylique; ^féthanol-N,N-diméthylformamide; ^gméthanol; ^hisopropanol-éther éthylique; ⁱméthanol-éther éthylique; ^jhexane-acétate d'éthyle.

tion 2 de la ptéridine, ce qui n'est donc pas le cas du composé **5**. En outre, les composés les plus actifs ne comportent pas de substituants sur les autres positions de la ptéridine. Au total, les 3,4-dihydroptéridines les plus puissamment hypo-uricémiantes sont de formule **7**, avec X = O.

Le substituant R a grande importance. Par modification du substituant d'origine 2,3-dichlorophényle des composés **4** et **4b**, nous avons pu augmenter l'activité d'un facteur parfois supérieur à 10, comme pour les composés **26b** (R = CH₂OCH₂) et **32b** (R = CH₂CF₃).

Les ptéridines **14** semblent posséder une activité assez proche de celle des 3,4-dihydroptéridines correspondantes **7** dont elles sont issues: voir par exemple les composés **70** et **32a**.

La méthylation du noyau pyrimidinique (**73** à **75**) ou le remplacement du noyau pyrazinique par un noyau pyridinique pour donner des déazaptéridines (**85** à **88**) sont toujours défavorables.

Les composés les plus actifs sont donc les composés **26b** et **32b**, dont la DE₅₀ est inférieure à 5 mg/kg. Un essai comparatif effectué sur plusieurs délais nous a permis de démontrer que le composé **26b** agit plus longtemps que le **32b** et c'est pourquoi, nous lui avons donné la préférence pour un plus ample développement.

Étude du composé **26b**

Le test de triage donne pour le composé **26b** une DE₅₀ de 4,3 mg/kg. L'allopurinol, testé dans les mêmes

conditions, montre une DE_{50} de 1,8 mg/kg. Exprimé en μmol de produit par kg d'animal, les deux produits sont équipotents ($DE_{50} = 13 \mu\text{mol/kg}$).

La figure 1 compare la cinétique de l'effet hypo-uricémiant du composé **26b** et de l'allopurinol pendant 8 h, après une administration orale unique de 40 mg/kg de composé **26b** et de 20 mg/kg d'allopurinol. Nous constatons que les deux produits donnent des courbes comparables et sont encore actifs 8 h après leur administration.

L'effet hypo-uricémiant chez le rat est persistant. En effet, après un traitement réitéré sur 15 j à $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$, on constate qu'il n'y a pas d'épuisement de l'effet dans le temps, tout comme pour l'allopurinol à $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$, tant chez le rat mâle que chez le rat femelle (tableau IV).

Le tableau V montre que le composé **26b** à l'instar de l'allopurinol exerce son effet hypo-uricémiant chez d'autres espèces que le rat: la souris et le cobaye y sont très sensibles.

L'action hypo-uricémiante de l'allopurinol est expliquée par un effet inhibiteur de la xanthine oxydase. Nous avons évidemment recherché ce même mécanisme d'action pour notre composé. Comme indiqué dans le tableau VI, le composé **26b** n'inhibe que de 16% l'activité enzymatique de la xanthine oxydase à la dose de $100 \mu\text{M}$ *in vitro*, alors que l'allopurinol est très actif: $CI_{50} = 0,425 \mu\text{M}$.

Ex vivo, par contre, le composé **26b** est actif: 36% d'inhibition de la xanthine oxydase à $47,7 \text{ mg/kg}$ par voie orale, dose équimolaire à 20 mg/kg par voie orale d'allopurinol. L'effet mesuré pour ce dernier, 52% d'inhibition est du même ordre de grandeur.

Notre produit agit donc vraisemblablement après métabolisation. Le composé 2-(hydroxyméthyl)-3,4-dihydroptéridine **15** a été identifié comme étant un métabolite quantitativement important du composé **26b**, mais il est moins puissant que ce dernier et, comme lui, il est actif sur la xanthine oxydase *ex vivo*, mais pas *in vitro*. Il ne constitue donc pas à lui seul une explication du mécanisme d'action du composé **26b** qui demeure en cours d'investigation.

Conclusion

La 2-(méthoxyméthoxyméthyl)-3,4-dihydroptéridine **26b**, est une molécule puissamment hypo-uricémiante chez le rat, la souris et le cobaye. L'effet hypo-uricémiant s'installe rapidement, en une heure environ, et peut durer plusieurs heures; il est du même ordre de grandeur que celui de l'allopurinol.

Le mécanisme d'action consiste chez le rat en une inhibition de la xanthine oxydase; cet effet n'apparaît toutefois qu'après métabolisation, contrairement à l'allopurinol.

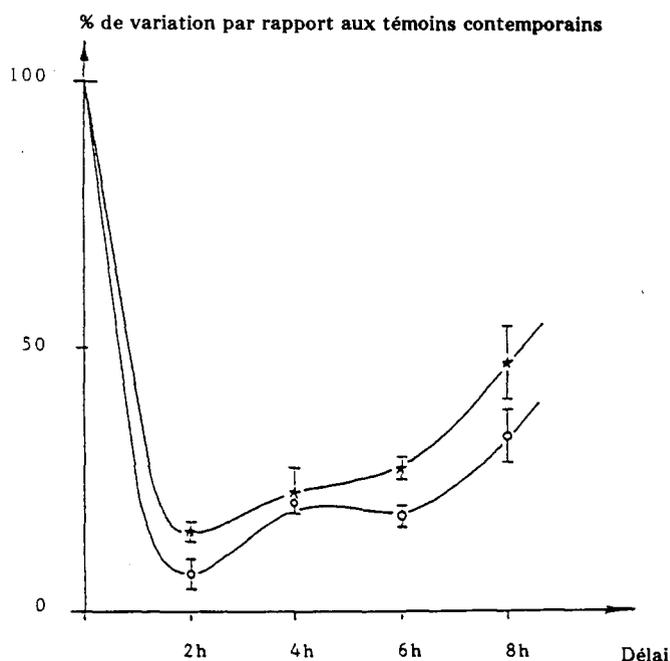


Fig 1. Cinétique de l'effet hypo-uricémiant chez le rat. *Compos **26b**: 40 mg/kg ($123 \mu\text{mol/kg}$); o: allopurinol: 20 mg/kg ($147 \mu\text{mol/kg}$).

Tableau IV. Persistance de l'hypo-uricémie après 15 j de traitement.

	Uricémie (μM)	
	Composé 26b $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$	Allopurinol $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$
Rats		
Mâles	$17,0 \pm 1,8$ -73%***	$13,9 \pm 1,3$ -78%**
Femelles	$21,6 \pm 3,2$ -70%**	$12,6 \pm 1,5$ -82%**

^aVariation par rapport au lot témoin: ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Tableau V. Effet hypo-uricémiant chez d'autres espèces que le rat.

Espèce	Dose (mg/kg)	Variation (%) par rapport au lot témoin	
		Composé 26b	Allopurinol
Souris	0,1	-43**	
	1,0	-48**	
	10,0	-63***	-67***
Cobaye	20		-70***
	40	-74***	

** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Tableau VI. Essais sur la xanthine oxydase hépatique de rat.

	Dose ^a	Composé 26b ^b	Allopurinol ^c
<i>Variation d'activité (%) par rapport au lot témoin</i>			
<i>In vitro</i>	1 μ M	-6 ^{NS}	-65***
	10 μ M	-12*	
	100 μ M	-16**	
<i>Ex vivo</i>	20 mg/kg		-52***
	48 mg/kg	-36***	
<i>Variation de l'uricémie (%) par rapport au lot témoin</i>			
<i>Ex vivo</i>	20 mg/kg		-89***
	48 mg/kg	-79***	

^a*Ex vivo*, dose équimolaire de composé **26b** et d'allopurinol (147 μ mol/kg); ^bCl₅₀ \gg 100 μ M; ^cCl₅₀ = 0,425 μ M [0,347–0,538]; ^{NS}P > 0,05; *P \leq 0,05; **P \leq 0,01; ***P \leq 0,001.

Partie expérimentale

Chimie (avec la collaboration technique de R Verchère et A Battesti)

Les points de fusion non corrigés ont été déterminés sur un appareil Gallekamp. Les analyses centésimales (C, H, Cl, F, N, S) effectuées par le Service central d'analyse du CNRS ont donné des résultats conformes aux formules moléculaires indiquées (\pm 0,4% de la théorie). Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil Beckman Acculab 2 et les spectres de RMN ¹H sur un appareil Varian T60 ou un appareil Bruker WP 60 CW, l'étalon interne étant le tétraméthylsilane; ils sont en accord avec les structures proposées.

Préparation des 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazines

2-Amino-3-(aminométhyl)pyrazine: [5, 6]

2-(Aminométhyl)-3-(méthylamino)pyrazine

Obtenue selon les modes opératoires de A Albert et K Ohta [5, 6] à partir du 3-(méthylamino)pyrazine-2-carbonitrile [9].

2-Amino-3-(méthylaminométhyl)pyrazine

À température ambiante, sous atmosphère d'azote, 6,5 ml (0,0522 mol) d'une solution de méthylamine à 33% dans l'éthanol absolu, sont ajoutés à une suspension de 5,5 g (0,0447 mol) de 3-aminopyrazine-2-carboxaldéhyde [10] dans 165 ml d'éthanol absolu. Après 2 h d'agitation, on ajoute 2,5 g (0,0661 mol) de borohydrure de sodium, à la solution obtenue. L'agitation est encore poursuivie pendant 2 h, puis le milieu réactionnel est concentré à sec sous pression réduite. Le résidu est repris au chlorure de méthylène; les produits minéraux insolubles sont éliminés par filtration et le filtrat organique est

concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est utilisé dans l'étape suivante sans autre purification. Rdt: 5,0 g (81%).

2-Amino-3-(α -aminobenzyl)pyrazine

Entre 20 et 25°C, sous atmosphère d'azote, on ajoute 2,6 g (0,0687 mol) de borohydrure de sodium à une suspension de 6,7 g (0,0338 mol) de 2-amino-3-(α -iminobenzyl)pyrazine [9] dans 200 ml de méthanol. Après 2 h 30 d'agitation, la solution obtenue est concentrée à sec sous pression réduite. Le résidu est repris au chlorure de méthylène; les produits minéraux insolubles sont éliminés par filtration et le filtrat organique est concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par recristallisation dans l'éther isopropylique. Rdt: 4,5 g (66%), F = 104–106°C, RMN ¹H (CDCl₃ + D₂O): δ = 5,2 (1H, s); 7,0–7,5 (5H, m); 7,8 (1H, d, J = 2 Hz); 8,0 (1H, d, J = 2 Hz).

2-Amino-3-(aminométhyl)-5-méthylpyrazine: [5, 6]

3-Amino-2-(aminométhyl)-5-méthoxy-pyrazine

3-Amino-5-méthoxy-pyrazine-2-carbonitrile. Sous atmosphère d'azote, on ajoute 15,9 g (0,103 mol) de 3-amino-5-chloropyrazine-2-carbonitrile [11] à une solution de méthylate de sodium obtenue à partir de 2,5 g (0,109 atome-gramme) de sodium et de 300 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est ensuite porté à reflux pendant 6 h. Après refroidissement, le précipité formé est isolé par filtration et lavé par 100 ml d'eau, puis par de l'acétone. Le solide obtenu est utilisé dans l'étape suivante sans autre purification. Rdt: 11,9 g (77%), F = 222–223°C, RMN ¹H (CDCl₃): 3,8 (3H, s); 7,2 (2H, pic échangeable avec CF₃COOD); 7,4 (1H, s).

3-Amino-2-(aminométhyl)-5-méthoxy-pyrazine. Obtenue à partir du 3-amino-5-méthoxy-pyrazine-2-carbonitrile selon A Albert et K Ohta [5, 6]. Rdt = 87%, RMN ¹H (DMSO d₆): δ = 1,8 (2H, pic échangeable avec D₂O); 3,65 (2H, s); 3,75 (3H, s); 6,3 (2H, pic échangeable avec D₂O); 7,2 (1H, s).

Préparation des autres diamines

Elles s'obtiennent aussi selon les modes opératoires de A Albert et K Ohta [5, 6].

2-Amino-3-(aminométhyl)pyridine: [12]

3-Amino-4-(aminométhyl)pyridine

Obtenue à partir du 3-aminopyridine-4-carbonitrile [13], RMN ¹H (CDCl₃ + DMSO d₆): δ = 1,8 (2H, pic élargi); 3,9 (2H, s); 7,0 (1H, d, J = 5 Hz); 7,9 (1H, d, J = 5 Hz); 8,05 (1H, s).

3-Amino-2-(aminométhyl)pyridine

Obtenue à partir du 3-aminopyridine-2-carbonitrile [14], RMN ¹H (CDCl₃ + DMSO d₆ + CF₃COOD): δ = 4,3 (2H, s); 7,1–8,0 (3H, m).

Préparation des imidates d'alcoyles **9** en milieu acide

Préparation des nitriles de départ

La plupart des nitriles mis en jeu pour obtenir ces imidates d'alcoyle sont connus. Deux phénoxyacétonitriles sont des composés nouveaux; ils sont connus. Deux phénoxyacétonitriles sont des composés nouveaux; ils sont obtenus selon JM Mc Manus et RM Herbst [15]:

(3-Fluorophénoxy)acétonitrile: rdt = 79%, $\epsilon_{b_{0,7-1,2}}$ = 68–74°C, RMN ¹H (CDCl₃): δ = 4,8 (2H, s); 6,6–7,7 (4H, m).

[3-(Diméthylamino)phénoxy]acétonitrile: rdt = 41%, $\text{éb}_{1,2-1,5} = 120-125^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 2,9$ (6H, s); 4,7 (2H, s); 6,1-6,6 (3H, m); 6,9-7,4 (1H, m).

Le (2,2,2-trifluoroéthoxy)acétonitrile est aussi un composé nouveau; il est obtenu selon le mode opératoire ci-dessous, inspiré de EM Movsum-Zade *et al* [16].

Vers 50°C , on solubilise 26,4 g (0,040 mol) de potasse 85% dans 100 g (1,0 mol) de 2,2,2-trifluoroéthanol. Après refroidissement à 25°C , on ajoute goutte à goutte 37,8 g (0,50 mol) de chloroacétonitrile à cette solution. La température s'élève lentement jusqu'à 40°C et un précipité apparaît. Le milieu réactionnel est ensuite porté progressivement à 60°C ; après adjonction de 300 ml d'heptane, il est porté à reflux. Toutes les vapeurs sont condensées au moyen d'un appareil de Dean-Stark. La phase inférieure du condensat est séparée par décanation et distillée sous pression atmosphérique. Rdt: 19,6 g (28%), $\text{éb} = 125-140^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 3,9$ (2H, q, $J = 8$ Hz); 4,4 (2H, s).

Préparation des imidates d'alcoyle 9 en milieu acide

On utilise les conditions de Pinner [7]. Les caractéristiques des composés nouveaux sont les suivantes:

chlorhydrate de 2-(2,3-dichlorophénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 95%, $F = 167-169^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-acétoxyacétimide d'éthyle: rdt = 95%, $F = 100-101^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-éthoxyacétimide d'éthyle: rdt = 72%, $F = 99-101^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-isopropoxyacétimide d'éthyle: rdt = 69%, hygroscopique;

chlorhydrate de 2-t-butoxyacétimide d'éthyle: rdt = 78%, $F = 86-87^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 30%, $F = 98-100^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(2-chlorophénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 89%, $F = 140-142^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(3-fluorophénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 94%, $F = 99-101^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(4-méthoxyphénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 88%, $F = 117-118^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-[(3-trifluorométhyl)phénoxy]acétimide d'éthyle: rdt = 44%, $F = 103-105^\circ\text{C}$;

dichlorhydrate de 2-[(3-diméthylamino)phénoxy]acétimide d'éthyle: rdt = 98%, hygroscopique;

chlorhydrate de 2-(2,6-dichlorophénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 86%, $F = 100-101^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(3,5-dichlorophénoxy)acétimide d'éthyle: rdt = 97%, $F = 166-168^\circ\text{C}$;

chlorhydrate de 2-(2,3-dichlorophénylthio)acétimide d'éthyle: rdt = 95%, $F = 103-105^\circ\text{C}$.

Préparation des imidates d'alcoyles 9 en milieu basique

Préparation des nitriles de départ

Certains nitriles mis en jeu pour obtenir ces imidates d'alcoyle sont connus. La méthode décrite par D Gauthier [17] est la plus générale; elle a permis d'obtenir les produits nouveaux suivants:

néopentoxyacétonitrile: rdt = 88%, $\text{éb}_{20} = 65^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 0,9$ (9H, s); 3,25 (2H, s); 4,25 (2H, s).

(cyclopropylméthoxy)acétonitrile: rdt = 53%, $\text{éb}_{15} = 83-85^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): δ : 0,1-1,4 (5H, m); 3,4 (2H, d, $J = 6,5$ Hz); 4,2 (2H, s);

(2-méthoxyéthoxy)acétonitrile: rdt = 64%, $\text{éb}_{24} = 94-99^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 3,3$ (3H, s); 3,4-3,8 (4H, m); 4,25 (2H, s);

[2-(2,2,2-trifluoroéthoxy)éthoxy]acétonitrile: rdt = 85%, $\text{éb}_{15} = 96-99^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 3,6-3,9$ (4H, m); 3,8 (2H, q, $J = 8,5$ Hz); 4,3 (2H, s);

(3-chlorobenzoyloxy)acétonitrile: rdt = 74%, $\text{éb}_{15} = 145-165^\circ\text{C}$;

(4-chlorobenzoyloxy)acétonitrile: rdt = 58%, RMN ^1H (CDCl_3):

$\delta = 4,2$ (2H, s); 4,6 (2H, s); 7,25 (4H, s);

(3-fluorobenzoyloxy)acétonitrile: rdt = 60%, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 4,2$ (2H, s); 4,6 (2H, s); 6,8-7,5 (4H, m);

(4-méthylbenzoyloxy)acétonitrile: rdt = 24%, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 2,4$ (3H, s); 4,2 (2H, s); 4,7 (2H, s); 7,1 (4H, s);

[1-(3,4-dichlorophényl)éthoxy]acétonitrile: rdt = 21%.

Les techniques décrites par DJ Loder et WM Bruner [18] et par JL Gras *et al* [19] ont permis d'obtenir les produits nouveaux suivants:

(1-méthoxyéthoxy)acétonitrile: rdt = 31%, IR: ν (CN) = 2230 cm^{-1} , RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 1,3$ (3H, d, $J = 5$ Hz); 3,3 (3H, s); 4,3 (2H, s); 4,8 (1H, q, $J = 5$ Hz);

(1-éthoxyéthoxy)acétonitrile: rdt = 44%, IR: ν (CN) = 2250 cm^{-1} , RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 1,2$ (3H, t, $J = 7$ Hz); 1,3 (3H, d, $J = 5,5$ Hz); 3,2-3,9 (2H, m); 4,1-4,3 (2H, m); 4,8 (1H, q, $J = 5,5$ Hz).

L'isopropylsulfonylacétonitrile est obtenu par oxydation de l'isopropylthioacétonitrile par l'acide peracétique selon la méthode de R Dijkstra et HJ Backer [20]: rdt = 75%, $F = 44-46^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 1,4$ (6H, d, $J = 6,5$ Hz); 3,4 (1H, septuplet, $J = 6,5$ Hz); 3,7 (2H, s).

Le (1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propoxy)acétonitrile est préparé à partir du 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol selon la méthode décrite pour le (2,2,2-trifluoroéthoxy)acétonitrile dans le paragraphe précédent: rdt = 27%, $\text{éb} = 95-130^\circ\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 4,0-4,6$ (1H, m); 4,6 (2H, s).

2-(4-Chlorobenzoyloxy)acétimide de méthyle: rdt = 86%.
 2-(3-Fluorobenzoyloxy)acétimide de méthyle: rdt = 76%.
 2-(4-Méthylbenzoyloxy)acétimide de méthyle: rdt = 82%.
 2-[1-(3,4-Dichlorophényl)éthoxy]acétimide de méthyle: rdt = 82%.
 2-(Tétrahydro-2-pyraniloxy)acétimide de méthyle: rdt = 55%, $\epsilon_{b_{2,5-2,8}} = 72-75^{\circ}\text{C}$.
 2-(Isopropylthio)acétimide de méthyle: rdt = 78%.
 2-(Isopropylsulfonyl)acétimide de méthyle: rdt = 88%.
 2,2-Diméthoxyacétimide de méthyle: rdt = 53%.
 Tétrahydrofurane-2-carboxymide de méthyle: rdt = 75%.

Préparation des 3,4-dihydroptéridines 7

Maléate de 2-(méthoxyméthyl)-3,4-dihydroptéridine 16b

Méthode A. On ajoute rapidement 12,4 g (0,0806 mol) de chlorhydrate de 2-méthoxyacétimide d'éthyle [22] à une solution de 10,0 g (0,0806 mol) de 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazine dans 200 ml d'éthanol. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 h à température ambiante, puis pendant 2 h à reflux; après refroidissement et élimination de quelques particules insolubles par filtration, il est concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris à l'eau ammoniacquée et extrait sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris à l'eau ammoniacquée et extrait au chlorure de méthylène. Les extraits organiques rassemblés sont concentrés à sec sous pression réduite. Le résidu recristallisé dans l'acétone donne 6,1 g (42%) de 2-(méthoxyméthyl)-3,4-dihydroptéridine **16a**, $F = 110-112^{\circ}\text{C}$, IR $\bar{\nu} = 3120, 3040, 2980, 2875, 2800, 1510, 1420, 1190, 1170, 1140, 1115, 1060\text{ cm}^{-1}$, RMN ^1H (DMSO d_6 + CF_3COOD): $\delta = 3,4$ (3H, s); 4,4 (2H, s); 4,9 (2H, s); 8,2 (1H, d, $J = 3$ Hz); 8,3 (1H, d, $J = 3$ Hz). Son maléate **16b** est préparé par dissolution de la base dans l'éthanol, addition d'une solution contenant 1,1 équivalent molaire d'acide maléique dans l'acétone et filtration du précipité formé. Il est purifié par recristallisation dans un mélange d'acétone et d'éthanol, $F = 144-146^{\circ}\text{C}$, anal $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$ (C, H, N), RMN ^1H (DMSO d_6): $\delta = 3,5$ (3H, s); 4,4 (2H, s); 4,9 (2H, s); 6,1 (2H, s); 8,35 (1H, d, $J = 3$ Hz); 8,55 (1H, d, $J = 3$ Hz); 11,0 (3H, pic échangeable avec CF_3COOD).

Méthode B. Un mélange de 8,0 g (0,0644 mol) de 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazine et de 7,0 g (0,0679 mol) de 2-méthoxyacétimide de méthyle [23] dans 150 ml d'éthanol est agité pendant 2 h à température ambiante, puis pendant 2 h à reflux. Le milieu réactionnel est ensuite concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est recristallisé dans l'acétone pour donner **16a** (rdt = 58%) à partir duquel on peut obtenir le maléate **16b**.

Préparation des ptéridines 14

Méthode C. Les ptéridines **14** sont obtenues par oxydation des 3,4-dihydroptéridines correspondantes **7** au moyen d'un équivalent molaire d'oxyde de barum et de deux équivalents molaires de dioxyde de manganèse dans le tétrahydrofurane [5, 6].

Autres méthodes

2-(Hydroxyméthyl)-3,4-dihydroptéridine 15

On ajoute rapidement 9,1 g (0,050 mol) de chlorhydrate de 2-acétoxyacétimide d'éthyle à une solution de 6,2 g (0,050 mol) de 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazine dans 100 ml

d'éthanol absolu. Il se forme un précipité; l'agitation est poursuivie pendant 2 h à température ambiante, puis pendant 2 h à reflux. Après refroidissement, le milieu réactionnel est concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris à l'eau ammoniacquée. Le solide en suspension est isolé par filtration et recristallisé dans l'éthanol (rdt = 41%), $F = 197-199^{\circ}\text{C}$, anal $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}$ (C, H, N), IR: $\bar{\nu} = 3130, 1550, 1520, 1450, 1085, 1065\text{ cm}^{-1}$, RMN ^1H (DMSO d_6 + CF_3COOD): $\delta = 4,4$ (2H, s); 4,8 (2H, s); 8,2 (1H, d, $J = 2,5$ Hz); 8,3 (1H, d, $J = 2,5$ Hz).

N-[(3-Amino-2-pyrazinyl)méthyl]-2-hydroxyacétamide 11

Dans la réaction d'obtention du composé **15** selon la méthode A, avant chauffage du milieu réactionnel, on peut isoler par filtration le chlorhydrate du composé **11** (rdt = 25%), $F = 170-172^{\circ}\text{C}$ (éthanol-*N,N*-diméthylformamide), anal $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{ClN}_5\text{O}$ (C, H, Cl, N), RMN ^1H ((DMSO d_6): $\delta = 4,1-4,4$ (2H, m); 4,5 (2H, s); 6,4 (3H, pic élargi); 7,65 (1H, d, $J = 3$ Hz); 7,85 (1H, d, $J = 3$ Hz); 9,1 (3H, pic élargi).

Maléate de 2-(2-furyl)-3,4-dihydroptéridine 83

N-[(3-Amino-2-pyrazinyl)méthyl]furane-2-carboxamide 12. Un mélange de 9,6 g (0,0773 mol) de 2-amino-3-(aminométhyl)pyrazine et de 11,5 g (0,0909 mol) de furane-2-carboximide de méthyle [24] dans 200 ml d'éthanol absolu est agité pendant 2 h à température ambiante, puis pendant 2 h à reflux. Le milieu réactionnel est ensuite concentré à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est précipité dans l'hexane et recristallisé dans l'acétate d'éthyle (rdt = 43%), $F = 131,5-133,5^{\circ}\text{C}$, RMN ^1H (CDCl_3): $\delta = 4,6$ (2H, s); 5,9 (2H, pic échangeable avec D_2O); 6,3-6,6 (1H, m); 6,7 (2H, pic échangeable avec D_2O); 6,8-7,0 (1H, m); 7,3-7,6 (1H, m); 7,7 (1H, d, $J = 2,5$ Hz); 7,9 (1H, d, $J = 2,5$ Hz). Son maléate est préparé par dissolution de la base dans un mélange d'acétone et d'éthanol, addition de 1,1 équivalent molaire d'acide maléique et filtration du précipité formé. Il est purifié par lavage à l'éther éthylique et recristallisation dans un mélange d'acétone et d'éthanol, $F = 151,5-152,5^{\circ}\text{C}$, anal $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5$ (C, H, N), IR: $\bar{\nu} = 3340, 3160, 3080, 1690, 1650, 1610, 1565, 1440, 1170, 1010, 850\text{ cm}^{-1}$, RMN ^1H (DMSO d_6): $\delta = 3,3$ (2H, pic échangeable avec CF_3COOD); 4,3-4,5 (2H, m); 5,9 (2H, s); 6,3 (2H, pic échangeable avec CF_3COOD); 6,6-6,9 (1H, m); 7,4-7,7 (2H, m); 7,7-7,9 (1H, m); 8,0-8,2 (1H, m); 9,4 (2H, pic échangeable avec CF_3COOD).

Maléate de 2-(2-furyl)-3,4-dihydroptéridine 83. Un mélange de 5,2 g (0,0239 mol) de **12** et de 250 ml de 2-éthoxyéthanol est porté à reflux pendant 1 h, puis est concentré à sec sous pression réduite. Le résidu solide obtenu est recristallisé dans un mélange d'acétone et d'éthanol en présence de Norit (rdt = 61%), $F = 186-188^{\circ}\text{C}$, RMN ^1H (DMSO d_6): $\delta = 4,8$ (2H, s); 6,6-6,9 (1H, m); 7,1-7,4 (1H, m); 7,8-8,0 (1H, m); 8,1 (1H, d, $J = 2,5$ Hz); 8,2 (1H, d, $J = 2,5$ Hz); 8,5 (1H, pic échangeable avec CF_3COOD). Le maléate **83** est préparé par dissolution de cette base et d'un équivalent molaire d'acide maléique dans l'éthanol, décoloration de la solution obtenue par du Norit et précipitation à l'éther éthylique; il est purifié par lavage à l'éther éthylique et recristallisation dans un mélange d'acétone et d'éthanol en présence de Norit, $F = 145^{\circ}\text{C}$, anal $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$ (C, H, N), IR: $\bar{\nu} = 3100, 3040, 2840, 1680, 1565, 1410, 1300, 1270, 1245, 1160, 1115\text{ cm}^{-1}$, RMN ^1H (DMSO d_6 + CF_3COOD): $\delta = 4,9$ (2H, s); 6,1 (2H, s); 6,7-6,9 (1H, m); 7,8-8,0 (1H, m); 8,1-8,4 (3H, m).

Biochimie pharmacologique (avec la collaboration technique de P Maire)

Effet hypo-uricémiant à 4 h (triage)

Des rats Sprague-Dwalet mâles de 300 à 320 g (IFFA Credo) sont répartis en lots de six, et mis à jeûn de nourriture le soir vers 16 h. Le lendemain, après avoir mis le produit en suspension dans une solution de gomme arabique à 5%, les animaux sont traités vers 9 h par intubation gastrique, à 0,1 mmol·kg⁻¹·10 ml⁻¹.

Après un délai de 4 h, ils sont sacrifiés par exsanguination (aorte abdominale) sous anesthésie à l'éther: on prélève alors environ 10 ml de sang, que l'on laisse coaguler pendant quelques minutes. Les sérums sont isolés par centrifugation (30 min à 2000 g). Une fraction aliquote de ces sérums est utilisée pour le dosage enzymatique de l'acide urique (méthode à l'uricase) d'une dose efficace (DE₅₀), le protocole est identique à celui du triage, à ceci près que l'effet du produit est mesuré à plusieurs doses, sur plusieurs lots. On détermine alors une DE₅₀ par le calcul (voir ci-dessous *Méthodes statistiques*).

Cinétique de l'effet hypo-uricémiant

Exception faite du délai, variable, le protocole utilisé est le même que dans le cas précédent. Pour chaque temps, un lot d'animaux témoins a été sacrifié de façon contemporaine aux lots traités, afin de prendre en compte une éventuelle variation nycéthémérale naturelle de l'uricémie.

Persistance de l'effet hypo-uricémiant

Des rats Sprague-Dwalet mâles et femelles de 280–300 g (IFFA Credo), répartis en lots de cinq, sont traités oralement dans les mêmes conditions que celles qui ont été décrites dans le premier paragraphe, à ceci près qu'ils ont reçu les produits pendant 15 jours. La fin de l'essai s'est déroulée comme dans le cas du protocole court, avec le sacrifice 4 h après la dernière administration.

Essais chez d'autres espèces que le rat

Pour la souris, on utilise des femelles Swiss OF₁ de 24–26 g (IFFA Credo); elles ne sont pas mises à jeûn la veille du sacrifice et le volume d'intubation est de 20 ml/kg. Enfin, elles sont sacrifiées par décapitation. Toutes les autres conditions expérimentales sont identiques à celles du rat.

Pour le cobaye, on utilise des mâles Hartley de 700–750 g (IFFA Credo); tout est comparable par ailleurs à ce qui est décrit pour le rat.

Essais sur la xanthine oxydase hépatique

Un morceau de foie de rat d'environ 1 g, mais pesé exactement, est broyé à l'ultra-turrax dans 5 volumes d'un tampon phosphate 50 mM EDTA 10 µM pH 7,5 à +4°C. L'homogénat est centrifugé 1 h à 100 000 g (+4°C): le surnageant (cytosol) représente la préparation enzymatique.

Les incubations ont lieu comme suit (30 min, 37°C):

- tampon phosphate 50 mM pH 7,5: 2,550 ml;
- préparation enzymatique: 0,050 ml;
- xanthine 0,6 mM (conc finale: 802 µM): 0,400 ml.

Pour chaque tube « essai », on mesure la densité optique de l'incubat à 0 et 30 min, à 293 nm: la différence de ces deux valeurs est notée Δ. Un tube « blanc », réalisé sans addition de xanthine, est fait de la même façon pour chaque tube « essai ».

L'activité enzymatique de principe est représentée par la variation Δ du tube « essai », diminuée de celle du « blanc » correspondant.

Dans les essais *in vitro*, l'inhibiteur est ajouté dissous dans les 2,55 ml de tampon phosphate.

Dans les essais *ex vivo*, l'inhibiteur préexiste dans le cytosol hépatique.

Méthodes statistiques

Les comparaisons de deux lots entre eux sont réalisées par les tests classiques de *t* de Student-Fisher, de U de Mann et Whitney, et de C1 de Fisher-Yates-Terry [25].

Les calculs de régression pour l'estimation des DE₅₀ sont basés sur des analyses de variance, après changement de variable éventuel et tests sur l'écart au modèle et sur l'existence de la régression [26].

Le calcul des limites de confiance à 95% des doses efficaces (tableaux I–III) est développé dans l'ouvrage de P Lazar [27].

Références

- 1 Beyer KH, Baer JE, Michaelson JK, Russo HF (1965) *J Pharm Exp Ther* 147, 1–22
- 2 Osdenne TS, Russell PB, Rane L (1967) *J Med Chem* 10, 431–434
- 3 Seeger DR, Cosulich DB, Smith JM Jr, Hultquist ME (1949) *J Am Chem Soc* 71, 1753–1758
- 4 Sletzinger M, Reinhold D, Grier J, Beachem M, Tishler M (1955) *J Am Chem Soc* 77, 6365–6367
- 5 Albert A, Ohta K (1969) *J Chem Soc D* 1168–1169
- 6 Albert A, Ohta K (1970) *J Chem Soc C* 1540–1547
- 7 Pinner A, Klein F (1877) *Ber* 10, 1889
- 8 Schaefer FC, Peters GA (1961) *J Org Chem* 26, 412–418
- 9 Kubo K, Murakami M, Ito N, Arima H, Honma H (1977) brevet japonais 76.138.700, 30 nov 1976, *Chem Abstr* 87, 53393 h
- 10 Albert A, Ohta K (1971) *J Chem Soc C* 2357–2362
- 11 Taylor EC, Abdulla RF, Tanaka K, Jacobi PA (1975) *J Org Chem* 40, 2341–2347
- 12 Beattie DE, Crossley R, Curran ACW, Hill DG, Lawrence AE (1977) *J Med Chem* 20, 718–721
- 13 LaMattina JL, Taylor RL (1981) *J Org Chem* 46, 4179–4182
- 14 Berrie AH, Newbold GT, Spring FS (1952) *J Chem Soc* 2042–2046
- 15 McManus JM, Herbst RM (1959) *J Org Chem* 24, 1464–1467
- 16 Movsum-Zade EM, Mamedov MG, Shikhiev IA (1976) *Zh Org Khim* 12, 1687–1689
- 17 Gauthier D (1906) *CR Acad Sci* 143, 831–832
- 18 Loder DJ, Bruner WM (1946) brevet US 2.398.757, 16 avril 1946, *Chem Abstr* 40, 3774⁵
- 19 Gras JL, Kong Win Chang YY, Guérin A (1985) *Synthesis* 74–75
- 20 Dijkstra R, Backer HJ (1954) *Recl Trav Chim Pays-Bas* 73, 569–574
- 21 Schneller SW, May JL, De Clercq E (1986) *Croat Chem Acta* 59, 307–311
- 22 Rule HG (1918) *J Chem Soc* 113, 3–20
- 23 Bakker CG, Scheeren JW, Nivard RJF (1981) *Recl Trav Chim Pays-Bas* 100, 13–20
- 24 Decroix B, Dubus P (1974) *CR Habd Séances Acad Sci Ser C* 279, 343–344
- 25 Schwartz D (1969) In: *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes* (3^e éd), Flammarion, Paris
- 26 Lellouch J, Lazar P (1974) In: *Méthodes statistiques en expérimentation biologique*, Flammarion, Paris
- 27 Lazar P (1976) In: *Les essais biologiques*, Cours du CESAM de l'université P et M Curie, Paris VI