

Synthèse et activité anti-inflammatoire de (3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidène) cyclanones et composés apparentés

M Varache-Béranger¹, A Nuhrich¹, J Amiell², P Dufour³, G Devaux^{1*}

¹Laboratoire de Pharmacie chimique et Chimie thérapeutique, Faculté des Sciences pharmaceutiques,
Université de Bordeaux II, 3, place de la Victoire, 33076 Bordeaux Cedex;

²Centre de Recherches Paul Pascal, CNRS, Château Brivazac, 33600 Pessac;

³Laboratoire de Pharmacodynamie et Hydrologie, Faculté des Sciences pharmaceutiques,
Université de Bordeaux II, 3, place de la Victoire, 33076 Bordeaux Cedex, France

(Reçu le 1^{er} juin 1990 ; accepté le 7 janvier 1991)

Résumé — Quelques (3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidène) cyclanones ont été préparées et soumises au test de l'œdème de la patte de rat induit par la carragénine en vue de rechercher l'activité anti-inflammatoire. Les composés étudiés se sont révélés légèrement moins actifs que la phénylbutazone. La recherche de l'activité antiagrégante plaquettaire réalisée *in vitro* sur des plaquettes humaines a montré, pour ces dérivés, un profil inhibiteur comparable à celui de l'aspirine. Une étude par spectrométrie de résonance paramagnétique électronique a permis de mettre en évidence une activité antiradicalaire.

Summary — Synthesis and anti-inflammatory activity of (3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene) cyclanones and related compounds. Some (3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene) cyclanones were synthesized and evaluated for anti-inflammatory activity in carragenin-induced rat paw edema assay. These compounds are slightly less active than phenylbutazone. Their inhibitory effects *in vitro* on human platelet aggregation have been also examined. The present study shows that the inhibitor profile of the tested compounds on platelet aggregation induced by arachidonic acid (AA), collagen and adenosine diphosphate (ADP) bears similarly to that of acetylsalicylic acid. The free radical scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical was measured by Electron Spin Resonance spectrometry. All the studied compounds scavenge the DPPH radical, dose dependently.

(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene) cyclanones / anti-inflammatory activity / platelet aggregation inhibitors / free radicals scavengers

Introduction

La génération de radicaux libres fait partie du déroulement normal d'un grand nombre de processus biologiques. Ainsi à l'état physiologique, certaines cellules – notamment les plaquettes sanguines – sont capables de produire des espèces oxygénées radicalaires constituant des intermédiaires intervenant dans la biosynthèse des eicosanoïdes [1–3]. D'autre part, de nombreuses pathologies sont associées à la production de radicaux libres [4] : outre les dommages tissulaires liés à l'ischémie, la phagocytose et le vieillissement tissulaire, le processus inflammatoire occupe une place privilégiée [5, 6]. Dans ce dernier cas, le méca-

nisme d'action des radicaux libres est complexe ; on leur attribue notamment un rôle dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la destruction de cellules endothéliales ou l'inactivation de divers systèmes enzymatiques [7].

Ces observations justifient la préparation de molécules à activité antiradicalaire. À ce titre, certains dérivés du 2,6-di-*tert*-butylphénol récemment synthétisés [8–11] représentent un nouveau type d'agents anti-inflammatoires. C'est la raison pour laquelle nous avons envisagé la synthèse de nouveaux composés appartenant à cette famille chimique et répondant à la structure générale de la figure 1. Nous nous proposons d'étudier leur comportement vis-à-vis des radicaux libres et de rechercher leur activité anti-inflammatoire éventuelle ainsi que leur capacité d'inhiber la fonction plaquettaire.

*Correspondance et tirés à part

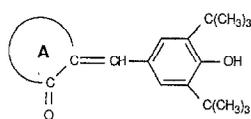


Fig 1.

Chimie

Pour accéder à ce type de composés, on réalise une réaction d'aldolisation-crotonisation entre une cétone à groupement « méthylène activé » (A) d'une part et le 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldéhyde d'autre part, en présence d'un catalyseur acide ou alcalin (fig 2).

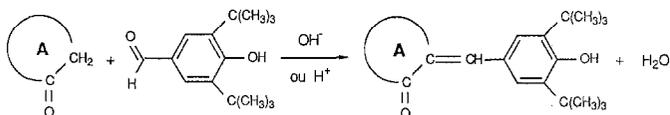


Fig 2.

Selon un mode opératoire voisin de celui que nous avons précédemment décrit [12], nous avons utilisé les cétones suivantes : la 2-thioxo-thiazolidin-4-one, l'indan-1-one, l'indan-1,3-dione et la 3,4-dihydro-(2H) naphthalèn-1-one. Les composés synthétisés sont regroupés dans le tableau I.

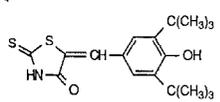
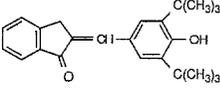
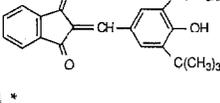
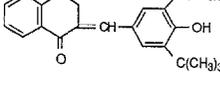
Étude stéréochimique des composés 1, 2 et 4

Pour préciser la configuration (*Z* ou *E* du groupement carbonyle par rapport au proton vinylique) de ces composés, nous avons enregistré leurs spectres RMN ^1H à 500 MHz, sur un appareil Bruker AMX 500 et repéré les positions respectives des protons vinylique et aromatique.

À titre comparatif, nous avons inclus dans cette étude l'isomère *Z* de la 2-(2,5-diméthoxybenzylidène)-3,4-dihydro-(2H) naphthalèn-1-one **5** dont la structure tridimensionnelle a été publiée par ailleurs [13] (fig 3). Les résultats sont rassemblés dans le tableau II.

Pour les composés **1**, **4** et **5**, on remarque que le proton vinylique résonne à champ plus faible que les protons aromatiques en *ortho*. Ce déblindage a déjà été observé pour les isomères *Z* de 5-aryl-méthylène-hydantoïnes [14], de 3-arylméthylènebenzofuranones [15] et de 3-arylméthylènechromanones [16] et s'explique par l'effet anisotrope du groupement carbonyle. La configuration de **5** étant connue (*Z*), il semble logique d'attribuer la même stéréochimie aux composés **1** et **4**.

Tableau I. Inhibition du radical 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH). Les résultats correspondent à la valeur moyenne calculée pour trois expérimentations différentes. CA : coefficient d'activité par rapport à l'acétate d' α -D-tocophérol (acétate d' α -D-tocophérol/composé étudié).

N° des composés	Concentration pour 50% d'inhibition		CA	
	$\mu\text{g}/100\mu\text{l}$	μM		
1 *		4,5	129	49
2 *		4,5	129	49
3 *		100	2759	2,3
4 *		8,5	235	27
Acétate d' α -D-tocophérol		300	6346	1

*Composés originaux.

Par contre, pour le dérivé **2**, la résonance du proton vinylique se produit à champ plus fort que celui des protons aromatiques. De plus, la multiplicité de ce signal (triplet, $J = 2,1$ Hz) suggère un couplage lointain avec les protons méthyléniques, ce qui a été confirmé par homodécouplage sélectif. Ces deux constatations permettent de proposer une configuration *E* pour ce composé.

Activités antiradicalaire et pharmacologique

L'activité antiradicalaire a été évaluée par résonance paramagnétique électronique (RPE) vis-à-vis du radi-

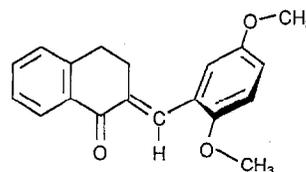
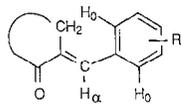


Fig 3. Composé 5.

Tableau II. Déplacements chimiques [référence : TMS-solvant ($(CD_3)_2CO$).



Composés	H_α	H_β
1	7,79 (s)	7,61 (s*)
2	7,71 (t, $J = 2,1$ Hz)	7,79 (s*)
4	7,92 (s)	7,54 (s*)
5	8,04 (s)	7,13 (m)

s* : deux singulets superposés

cal 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH), en solution dans l'éthanol. La figure 4 montre l'effet du composé 2 sur ce radical. On peut mettre en évidence une corrélation entre la diminution de l'intensité du signal observé et la quantité de substance introduite. De la même façon, les autres dérivés étudiés piègent le radical DPPH proportionnellement à leur concentration. Le tableau I regroupe les concentrations respectives entraînant 50% d'inhibition radicalaire (fig 5). Les composés 1 à 4 apparaissent comme meilleurs piègeurs du radical DPPH que l'acétate d' α -D-tocophérol, utilisé comme substance de référence. Les dérivés 1 et 2 ont notamment une activité près de 50 fois supérieure à celle de l'acétate d' α -D-tocophérol.

La très faible solubilité dans l'eau de ces composés nous a empêché d'étudier leur effet vis-à-vis de radicaux libres oxygénés biologiques : radicaux hydroxyle, hydroperoxyde et superoxyde. Cependant, devant l'importance de leur activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH, il nous a semblé intéressant d'étudier leur comportement dans deux cas particuliers où interviennent les radicaux libres : l'agrégation plaquettaire et le processus inflammatoire.

L'activité antiagrégante a été évaluée *in vitro* sur des plaquettes humaines, vis-à-vis de trois agents inducteurs de l'agrégation : l'acide arachidonique (AA), le collagène dilué et l'adénosine diphosphate (ADP). L'examen du tableau III permet de remarquer une hétérogénéité de l'activité antiagrégante en fonction de l'inducteur utilisé.

Dans le cas de l'AA et du collagène, les différents composés essayés entraînent une inhibition de l'agrégation plaquettaire se produisant pour des domaines de concentrations de l'ordre de 10^{-4} M (les concentrations inhibitrices sont comprises entre 112 et 600 mM).

Par contre, les concentrations inhibant l'agrégation à l'ADP sont de 10 à 20 fois inférieures aux précédentes ($12,5 \text{ mM} < CI_{50} < 28 \text{ mM}$).

Dans nos conditions expérimentales, on peut remarquer pour l'aspirine une disparité comparable des CI_{50} , selon l'agent inducteur, conduisant à mettre en

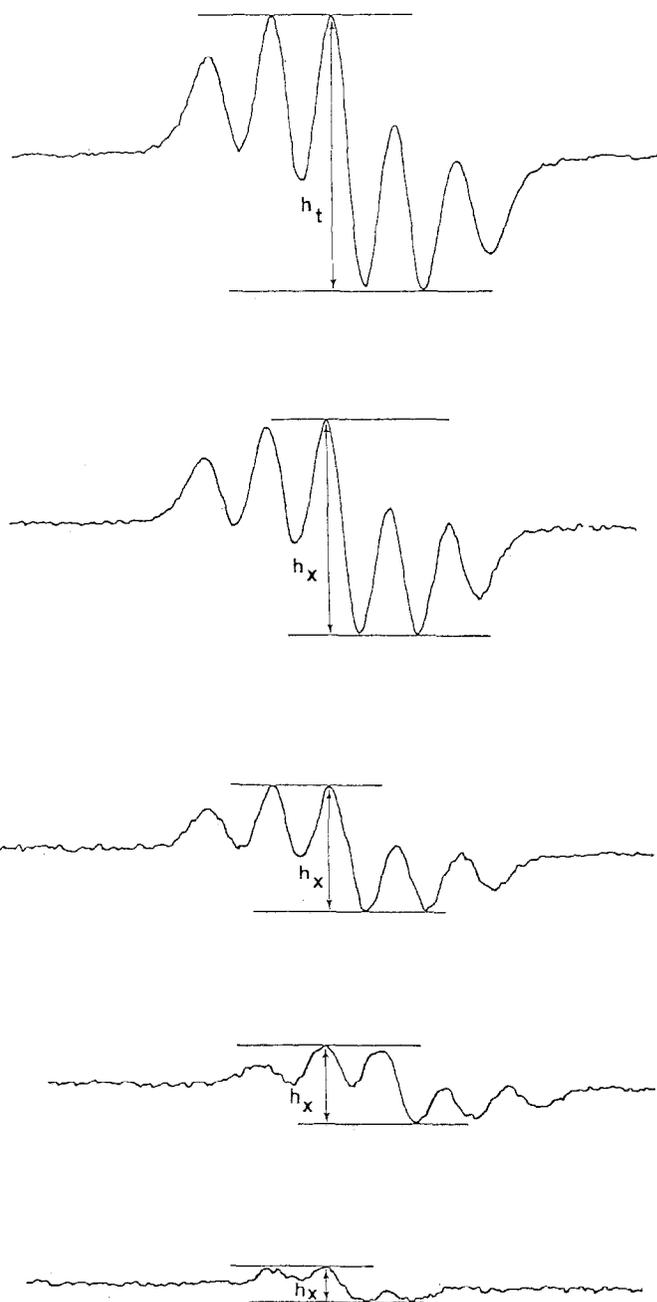


Fig 4. Spectres RPE du radical DPPH après addition de 2, 5, 10, et 50 μg de 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidène)-indan-1-one en solution dans 100 μl d'éthanol.

évidence des profils antiagrégants plaquettaires superposables pour les composés essayés et la substance de référence.

En outre, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines étant reconnue comme principal mécanisme

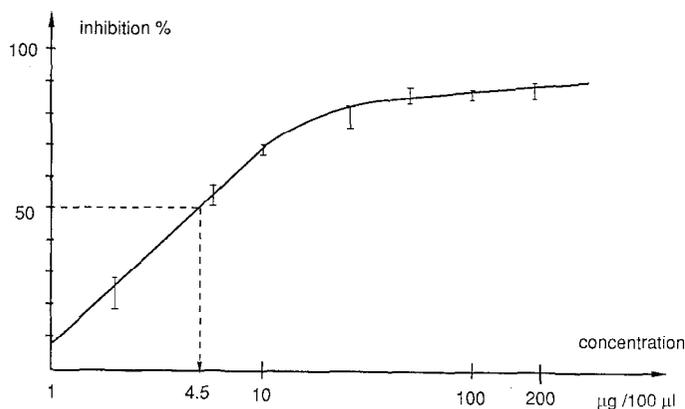


Fig 5. Inhibition radicalaire du composé 2 : courbe dose-effet.

d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens et notamment de l'aspirine [17], la similitude des comportements antiplaquettaires observée permet donc d'envisager pour les dérivés testés un point d'impact au niveau du métabolisme des prostaglandines. Cette hypothèse est en accord avec le mécanisme d'action proposé pour divers anti-inflammatoires à structure di-*tert*-butylphénolique doués de propriétés antiradicalaires [8, 10, 11].

Tableau III. Inhibition de l'agrégation plaquettaire dans les plaquettes humaines*. CA : coefficient d'activité par rapport à l'aspirine : aspirine/composé étudié ; voir [18].

N° des composés	Acide arachidonique		Collagène		Adénosine diphosphate	
	CI ₀ -CI ₁₀₀ (µM)	CA	CI ₅₀ (µM)	CA	CI ₅₀ ** (µM)	CA
1	360-500	1-1,2	165	2,7	15,5	2
2	120-150	3-5	112	4	14,8	2,1
3	450-600	0,8-1	375	1,2	28	1,1
4	120-150	3-5	118	3,8	12,5	2,5
Aspirine	360-600	1	450	1	31,1	1

*Les résultats correspondent à la valeur moyenne calculée pour trois expérimentations différentes.

**Inhibition de la libération d'ADP endogène plaquettaire (2^e vague d'agrégation).

La détermination de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée en appréciant l'inhibition de l'œdème à la carragénine chez le rat, comparativement à la phénylbutazone. Les résultats sont regroupés dans le tableau IV. À la dose de 0,15 mM·kg⁻¹ par voie orale, les quatre composés n'ont aucun effet significatif. Par contre, à la dose de 0,50 mM·kg⁻¹, ils exercent une nette activité anti-inflammatoire. Le composé le plus actif de la série (composé 1) provoque une inhibition de l'œdème proche de 60%. Les trois autres dérivés manifestent une activité anti-inflammatoire modérée (37-48% d'inhibition œdémateuse). Bien que moins efficaces que la phénylbutazone, les composés préparés se sont par contre montrés dépourvus de toute toxicité aiguë dans nos conditions expérimentales.

Conclusion

Cette étude montre que les cétones di-*tert*-butylphénoliques synthétisées manifestent une nette activité antiradicalaire *in vitro* vis-à-vis du DPPH, supérieure à celle de l' α -D-tocophérol.

Cependant, il n'existe pas de proportionnalité entre l'intensité de cette activité et le pouvoir anti-inflammatoire *in vivo* qui demeure inférieur à celui de la phénylbutazone.

Tableau IV. Activité anti-inflammatoire et essai de toxicité. L'analyse statistique des résultats a été effectuée selon le test *t* de Student.

N° des composés	Essai de toxicité dose en mM.kg ⁻¹ (et en mg.kg ⁻¹)	Pourcentage d'inhibition de l'œdème à la carragénine par rapport aux témoins	
		0,15 mM.kg ⁻¹	0,50 mM.kg ⁻¹
1	DL 0 > 5,7 (2000)	13	57*
2	DL 0 > 5,7 (2000)	- 10	48*
3	DL 0 > 5,5 (2000)	- 14	44*
4	DL 0 > 5,5 (2000)	7	37*
Phénylbutazone		55*	73*

*Différence significative ($P < 0,001$) par rapport à la valeur du témoin.

Les résultats de l'activité antiagrégante plaquettaire suggèrent que le mode d'action de ces dérivés pourrait se situer au niveau des espèces radicalaires intervenant dans la biosynthèse des prostaglandines.

Le manque d'information sur l'activité de ces molécules vis-à-vis des radicaux oxygénés biologiques incite à retoucher leur structure afin de leur conférer une meilleure hydrosolubilité.

Protocoles expérimentaux

Méthodes chimiques

Les points de fusion, non corrigés, ont été déterminés sur banc de Köfler. Les analyses élémentaires (C, H, N) ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du CNRS de Vernaison (Rhône) et ont donné des résultats conformes aux normes habituelles. Les spectres IR ont été réalisés en dispersion dans le bromure de potassium, au moyen d'un spectrophotomètre Beckman Aculab 1. Les spectres RMN ¹H ont été enregistrés en solution dans le diméthylsulfoxyde deutérié sur un appareil Varian EM 360 L émettant à 60 MHz. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS, utilisé comme référence interne (les abréviations utilisées sont les suivantes : s, singulet ; s*, singulets superposés ; m, massif).

5-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzylidène)(2-thioxo-thiazolidin-4-one) 1 Méthode A

Dans un réacteur de 250 ml, on met en suspension 1,33 g (0,01 mol) de 2-thioxo-thiazolidin-4-one et 2,35 g (0,01 mol) de 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldéhyde dans 50 ml d'éthanol. On ajoute goutte à goutte sous agitation 0,5 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 50%. Le milieu réactionnel est porté au reflux pendant 4 h, puis laissé 24 h à tempé-

rature ambiante, à l'obscurité. Le mélange est versé dans 200 ml d'eau froide et neutralisé avec de l'acide chlorhydrique dilué au demi. On recueille un précipité jaune qui est lavé abondamment à l'eau, puis purifié par passage sur colonne de silice (silice 60 : 70-230 mesh ASTM) ; éluant : dichlorométhane-acétate d'éthyle (70/30). Après évaporation du solvant sous vide, une recristallisation dans le cyclohexane conduit à 0,98 g de cristaux jaune vif (Rdt = 29%). F = 225°C ; C₁₈H₂₃NO₂S₂ ; PM = 349,52 ; IR (KBr) cm⁻¹ : 3600 (ν OH) ; 3140 (ν NH) ; 1690 (ν C=O) ; 1570 (ν C=C) ; 1190 (ν C=S) ; RMN (DMSO-d₆) δ : 1,43 (s*, 18H, 2C(CH₃)₃) ; 7,36 (s, 2H, CH aromatiques) ; 7,60 (s, 1H, C=CH) ; 7,83 (s, 1H, -OH) ; 13,60 (s, 1H, -NH).

2-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzylidène)indan-1-one 2

Méthode B

Dans un mélange de 2,35 g (0,01 mol) de 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldéhyde, 1,32 g (0,01 mol) d'indan-1-one et 50 ml d'acide acétique cristallisable, on introduit goutte à goutte 1 ml d'acide sulfurique concentré. Le milieu est maintenu sous agitation pendant 3 h, à température ambiante, puis laissé à l'obscurité pendant 48 h. Le précipité formé est lavé à l'eau jusqu'à neutralité, puis recristallisé dans l'heptane. On obtient 2,40 g de fines aiguilles jaune paille (Rdt = 69%). F = 156-157°C ; C₂₄H₂₈O₂ ; PM = 348,49 ; IR (KBr) cm⁻¹ : 3500 (ν OH) ; 1685 (ν C=O) ; 1610 (ν C=C) ; RMN (DMSO-d₆) δ : 1,46 (s*, 18H, 2C(CH₃)₃) ; 4,03 (signal élargi, 2H, -CH₂-) ; 7,43 à 7,90 (m, 7H, CH éthylénique et aromatiques) ; signal OH non repérable.

2-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzylidène)-indan-1,3-dione 3

À partir de 1,46 g (0,01 mol) d'indan-1,3 dione on obtient, selon la méthode B, un précipité qui, après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant : dichlorométhane) et par recristallisation dans l'heptane, conduit à 2,71 g de cristaux jaune orangé (Rdt = 75%). F = 158-9°C ; C₂₄H₂₆O₃ ; PM = 362,47 ; IR (KBr) cm⁻¹ : 3520 (ν OH) ; 1725 et 1680 (ν C=O) ; 1610 (ν C=C) ; RMN (DMSO-d₆) δ : 1,46 (s*, 18H, 2C(CH₃)₃) ; 7,70 à 8,50 (m, 7H, CH éthylénique et aromatiques) ; signal OH non repérable.

2-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzylidène)-3,4-dihydro-(2H)naphthalèn-1-one 4

À partir de 1,33 ml (0,01 mol) de 3,4-dihydro-(2H) naphthalèn-1-one, fraîchement distillée, on obtient, selon la méthode B, un précipité qui, après deux recristallisations dans l'heptane, puis l'éthanol, conduit à un produit se présentant sous deux formes polymorphes donnant des spectres RMN strictement identiques : l'une fondant à 136°C (cristaux blancs), l'autre à 150°C (cristaux jaunes). Par simple chauffage du mélange on obtient uniquement la forme stable (F = 150°C), seule retenue dans notre étude (Rdt = 22%). F = 150°C ; C₂₅H₃₀O₂ ; PM = 362,51 ; IR (KBr) cm⁻¹ : 3490 (ν OH) ; 1660 (ν C=O) ; 1600 (ν C=C) ; RMN (DMSO-d₆) δ : 1,60 (s*, 18H, 2C(CH₃)₃) ; 2,90 à 3,43 (m, 4H, CH₂) ; 7,20 à 8,13 (m, 7H, CH éthylénique et aromatiques) ; signal OH non repérable.

Méthodes pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire et de l'activité pharmacologique

Activité antiradicalaire vis-à-vis du radical 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH)

La méthode utilisée est celle de Uchida *et al* [19], l'étude des radicaux libres étant réalisée par résonance paramagnétique électronique (RPE).

À 100 µl d'une solution éthanolique de DPPH (Sigma-90%) 150 mM, on ajoute 100 µl de solution dans l'éthanol du composé essayé, de concentration variable. Après homogénéisation par agitation pendant 10 s, la solution est placée dans une cellule de 200 µl. Exactement 60 s plus tard, le spectre de la structure hyperfine du radical DPPH est enregistré à l'aide d'un spectromètre Varian E 109, travaillant en bande X (9,5 GHz). Les conditions expérimentales pour l'ensemble des spectres étudiés sont toujours les suivantes : champ magnétique 3400 Gauss, puissance 6 mW, réponse 0,250 s, modulation 4 Gauss, amplitude $2,5 \cdot 10^4$, temps de balayage 2 min, température ambiante.

Pour chaque concentration du composé essayé, on calcule l'activité antiradicalaire d'après la relation :

$$I = \frac{100 h}{h_i}$$

où I = pourcentage d'inhibition du radical DPPH ; h_i = hauteur maximale du signal obtenu avec le témoin (contenant 100 µl d'éthanol pur) ; h_x = hauteur maximale du signal obtenu avec le composé essayé.

Pour chaque produit, on établit une courbe d'activité en fonction de la dose, en portant sur un graphique : en abscisse, le logarithme de la concentration finale dans le milieu d'étude, exprimée en µM ; en ordonnée, le pourcentage d'inhibition radicalaire. De chaque courbe est déduite la concentration entraînant 50% d'inhibition radicalaire (µM). Dans les mêmes conditions opératoires, nous avons essayé comme substance de référence, l'acétate de l' α -D tocophérol, connu pour ses propriétés antiradicalaires vis-à-vis du DPPH [20].

Activité antiagrégante plaquettaire

Le protocole expérimental est décrit dans une de nos publications précédentes [21]. On utilise la méthode néphélométrique de Born et Cross [22].

Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée selon la méthode de Winter *et al* [23] sur l'œdème de la patte du rat induit par l'injection locale de carragénine. Les produits étudiés ont été administrés par voie orale en suspension dans une préparation de carboxyméthylcellulose (CMC) à 0,5% à des groupes de 4 à 6 rats (Wistar femelles de 150 g en moyenne) mis à jeun la veille. Une heure plus tard, une suspension de carragénine à 1% dans une solution de chlorure de sodium à 9‰ a été injectée dans le coussinet plantaire de la patte arrière droite des animaux (0,05 ml/rat). La réaction œdémateuse a été mesurée 3 h après l'injection de carragénine, par pléthysmographie, au moyen d'un appareil APELAB. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition par comparaison avec un groupe d'animaux témoins (CMC 0,5%).

Toxicité

Les composés étudiés, mis en suspension dans une préparation de carboxyméthylcellulose à 0,5%, ont été administrés par voie orale ($10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$) à des groupes de deux rats (Wistar femelles de 150 g environ) mis à jeun la veille. À la dose maximale administrable de $2000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, les dérivés 1 à 4 ont été bien

tolérés. Les traitements n'ont modifié ni l'aspect, ni le comportement des animaux. En outre, ils n'ont pas provoqué l'apparition de signes de toxicité.

Remerciements

Les auteurs remercient M le Professeur Vercauteren qui leur a permis d'avoir accès au spectromètre Bruker AMX 500 pour la réalisation des spectres RMN à haute résolution, ainsi que Mme Annie Lagardère et M Stéphane Larroure pour leur collaboration technique.

Références

- 1 Yamasaki I, Tamura M, Nakajima R, Nakamura M (1985) *Health Perspect* 64, 331–334
- 2 Marcus AJ, Silk ST, Safier LB, Ullman HL (1977) *J Clin Invest* 59, 149–158
- 3 Violi F, Ghiselli A, Iuliano L, Alessandri C, Cordona C, Balsano F (1988) *Haemostasis* 18, 91–98
- 4 Halliwell B, Grootveld M (1987) *FEBS Lett* 213, 9–13
- 5 Hiller KO, Wilson RL (1983) *Biochem Pharmacol* 32 (13), 2109–2111
- 6 Mueller-Peddinghaus R (1989) *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 96 (4), 210–212
- 7 Symons AM, Dowling EJ, Parke DV (1988) *Basic Life Sci* 49, 987–990
- 8 Moore GGI, Swingle KF (1982) *Agents Actions* 12 (5), 674–683
- 9 Isomura Y, Sakamoto S, Ito N, Homma H, Aba T, Kubo K (1984) *Chem Pharm Bull* 32 (1), 152–165
- 10 Ikuta H, Shirota H, Kobayashi S, Yamagishi Y, Yamada K, Yamatsu I, Katayama K (1987) *J Med Chem* 30, 1995–1998
- 11 Katsumi I, Kondo H, Yamashita K, Hidaka T, Hosoe K, Yamashita T, Watanabe K (1986) *Chem Pharm Bull* 34, 121–129
- 12 Nuhlich A, Lablanche C, Devaux G, Carpy A, Dufour P, Nguyen Ba C, Roquebert J (1981) *Eur J Med Chem* 16, 551–555
- 13 Varache-Béranger M, Nuhlich A, Devaux G, H'naifi A, Carpy A (1986) *Il Farmaco* 2, 156–167
- 14 Tan SF, Ang KP, Fong YF (1986) *J Chem Soc Perkin Trans II* 1941–1944
- 15 Gadre SY, Marathe KG (1988) *Synth Commun* 18 (9), 1015–1027
- 16 Nakib T Al, Bezjak V, Meegan MJ, Chandy R (1990) *Eur J Med Chem* 25, 455–462
- 17 Vane JR (1971) *Nature* 231, 232–235
- 18 Levy-Toledano S, Maclouf J, Caen J, Bara L, Lecrubier C, Samama M (1983) *J Pharmacol* 14, 141–150
- 19 Uchida S, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Nonaka GI, Nishioka I, Niwa M, Ozaki M (1987) *Med Sci Res* 15, 831–832
- 20 Takahashi M, Tsuchiya J, Niki E (1989) *J Am Chem Soc* 111, 6350–6353
- 21 Varache-Béranger M, Nuhlich A, Carpy A, Dupin JP, Devaux G (1986) *Eur J Med Chem* 21, 255–259
- 22 Born GVR, Cross MJ (1963) *J Physiol* 168, 178–195
- 23 Winter CA, Risley EA, Nuss GW (1962) *Proc Soc Exp Biol Med* 111, 544–547