

Synthèse et approche pharmacologique de nouveaux hétérocycles azotés et soufrés apparentés au Fostedil

A Rached¹, G Baziard-Mouysset¹, M Payard¹, J Bellan^{1*}, R Bonnafe², J Tisne-Versailles²,
C Bories³, P Loiseau³, P Gayral³

¹Département de Chimie Pharmaceutique, 31, allée J-Guesde, 31000 Toulouse;

²Laboratoires P-Fabre, 17, avenue J-Moulin, 81106 Castres;

³Faculté de Pharmacie, 3, rue JB-Clément, 92290 Châtenay-Malabry, France

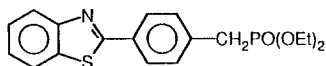
(Reçu le 22 juillet 1991; accepté le 4 novembre 1991)

diethylbenzylphosphonate / Fostedil / calcium antagonist / nematocidal activity

Introduction

Au cours d'un programme de recherche consistant à découvrir de nouveaux anti-inflammatoires, K Yoshino *et al* [1] ont été amenés à synthétiser des bioisostères de l'acide phényl acétique. L'un des composés obtenus, le 4-(2-benzothiazolyl) benzylphosphonate de diéthyle ou Fostédil n'a pas montré de propriétés anti-inflammatoires, mais s'est par contre révélé avoir une activité antagoniste calcique.

Le Fostédil est une molécule de structure simple qui comprend trois parties: un motif méthyl phosphonate, un groupement phényle, un hétérocycle benzothiazole.



Ce nouveau composé constitue un chef de file original pour cette classe thérapeutique des antagonistes calciques à côté des modèles classiques que sont les dihydropyridines, le Vérapamil, ou le Diltiazem. Il augmente, par contre, l'hétérogénéité structurale de ce groupe qui ne semble avoir en commun que l'activité pharmacologique finale.

L'objet de cette communication est de présenter la synthèse et l'étude pharmacologique de neuf nouveaux composés (tableau I) obtenus en remplaçant le radical benzothiazolyle du Fostédil par des hétéro-

cycles plus ou moins isostères tels que des indolizines connues pour leurs effets sur le système cardiovasculaire [2] ou des hétérocycles azotés et soufrés à structure bi ou tricyclique. L'analogie structurale des hétérocycles que nous avons synthétisés avec des composés présentant une activité anti-parasitaire (lévamisole, thiabendazole) nous a également incités à explorer une éventuelle activité de nos produits dans ce domaine.

Chimie

Les hétérocycles que nous avons étudiés ont été obtenus selon les conditions de la réaction de Hantzsch [3], effectuée entre le 4-bromo acétyl benzylphosphonate de diéthyle **4** et divers nucléophiles bifonctionnels. La synthèse du phosphonate **4** a été réalisée à partir de la *p*-méthylacétophénone **1** selon les différentes étapes reproduites dans le schéma 1.

La bromation de **1** effectuée par le *N*-bromosuccinimide, selon la méthode de Jarvis et Saukaitis [4] conduit à la *p*-bromométhylacétophénone **2** que l'on traite par le triéthylphosphite pour obtenir la *p*-diéthylphosphonométhyl acétophénone **3** qui est

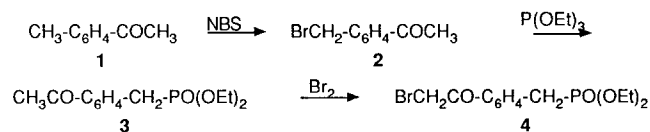


Schéma 1.

*Correspondance et tirés à part

transformée en 4-bromoacétylbenzylphosphonate de diéthyle **4** par l'action du brome dans l'acide acétique.

La cyclocondensation de **4** avec divers nucléophiles bifonctionnels azotés et soufrés conduit à deux séries de benzyl phosphonates substitués en *para* par des structures bicycliques (A) ou tricycliques (B) de formule générale $R-C_6H_4-CH_2-PO(OEt)_2$ (schéma 2). Les principales caractéristiques physico-chimiques de ces composés sont rassemblées dans le tableau I.

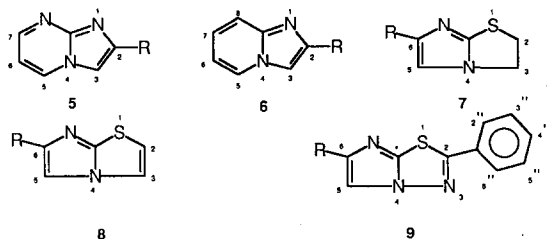
Le schéma réactionnel (schéma 3) transposable à tous les autres composés de cette série, représente la réaction de cyclocondensation de **4** avec la 2-amino pyrimidine.

Pharmacologie

Activité inhibitrice calcique

L'effet inhibiteur calcique de nos composés est recherché *in vitro* par l'étude de la diminution de la contraction de fragments d'aorte de lapin induite par le chlorure de calcium. Ce test, inspiré de Polster [5], a également été effectué sur le Fostédil et sur des produits utilisés en thérapeutique à titre de comparaison.

Série A. Composés 5 à 9



Série B. Composés 10 à 13

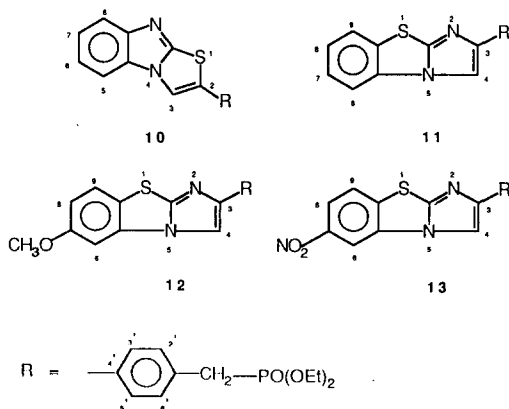


Schéma 2. Benzylphosphonates **5** à **13**.

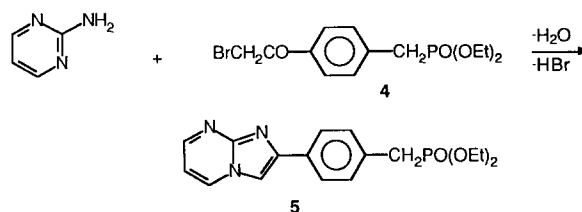


Schéma 3.

Les résultats sont rapportés dans le tableau II. Malgré l'analogie, voire l'isostérie, de certains de nos composés avec le groupement benzothiazolyne du Fostédil, les hétérocycles azotés et soufrés que nous avons synthétisés dans ce travail n'ont induit aucune activité inhibitrice calcique (tableau II). Par contre, certains hétérocycles comme le benzofurane ou le benzothiophène induisent une activité inhibitrice comparable à celle du Fostédil [6].

Comme cela a été mis en évidence auparavant [7, 8], nous constatons également dans ce travail que le groupement phosphonate de diéthyle n'est pas suffisant à lui seul pour induire une activité inhibitrice calcique et ne peut que la potentialiser.

Activité nématocide

L'activité nématocide a été évaluée, *in vitro*, vis-à-vis de *Molinema dessetae* et *Nippostrongylus brasiliensis*. Les résultats de ces essais, rassemblés dans le tableau III, montrent que le composé **11** présente une activité moyenne vis-à-vis des deux nématodes étudiés. Par contre, les composés **10** et **12** ne montrent une certaine activité que vis-à-vis de *Molinema dessetae*, le composé **12** étant le plus intéressant. Il est à noter également que tous les composés actifs sont des structures tricycliques de la série B.

Partie expérimentale

Chimie

La pureté des produits a été vérifiée systématiquement par chromatographie sur couche mince de gel de silice 60 F 254. Les points de fusion sont pris au bloc Maquenne électrique et ne sont pas corrigés. Les micro analyses, conformes aux normes traditionnellement admises, ne sont pas publiées. Les spectres IR sont effectués, soit sous forme de film pour les liquides, soit par inclusion dans des pastilles de KBr pour les solides et sont enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer modèle 983G. Les spectres 1H RMN sont effectués sur un appareil Varian T60 à 60 MHz et (ou) sur appareil Bruker à 200 MHz. Le TMS constitue la référence interne et les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. Les spectres de ^{31}P RMN sont réalisés sur un appareil Bruker 90 MHz FT, l'acide orthophosphorique constituant la référence interne. Pour tous les

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques des composés 5 à 13.

Composé	Formule brute	PM	Rdt (%)	Point de fusion (°C)	R _f (acétate d'éthyle)
5	C ₁₇ H ₂₀ N ₃ O ₃ P	345	50	138	0,62
6	C ₁₈ H ₂₁ N ₂ O ₃ P	344	40	110	0,88
7	C ₁₆ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	352	40	108	0,70
8	C ₁₆ H ₁₉ N ₂ O ₃ PS	350	30	132	0,75
9	C ₂₁ H ₂₂ N ₃ O ₃ PS	427	20	193	0,81
10	C ₂₀ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	400	54	194	0,89
11	C ₂₀ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	400	50	164	0,88
12	C ₂₁ H ₂₃ N ₂ O ₄ PS	430	52	172	0,85
13	C ₂₀ H ₂₀ N ₃ O ₅ PS	445	46	224	0,91

Tableau II. Modifications en % de la contraction au CaCl₂. Les composés sont essayés à la concentration de 0,5 µg/ml, les concentrations inhibitrices (CI₅₀) sont exprimées en microgramme par millilitre.

Composés A	Modifications en % de la contraction au CaCl ₂	Composés B	Modifications en % de la contraction au CaCl ₂	Composés témoins	Modifications en % de la contraction au CaCl ₂
5	+ 2	10	+ 2	Fostédil	- 57
6	- 13	11	+ 7	Diltiazem	CI ₅₀ = 0,1
7	+ 3	12	+ 12	Vérapamil	CI ₅₀ = 0,055
8	- 4	13	0	Nifédipine	CI ₅₀ = 0,009
9	- 5	—	—	—	—

Tableau III. Activité nématodicide. In = Inactif; dans ce cas CE₅₀ > 400 µM/I.

Composé	Molinema dessetae		Nippostrongylus brasiliensis	
	CE ₅₀ (µM/I) in vitro		CE ₅₀ (µM/I) in vitro	
	J2	J8	J2	J5
5	In	In	In	In
6	In	In	In	In
7	In	369	334	284
8	In	148	In	273
9	In	In	In	In
10	353	16	In	In
11	75	75	68	50
12	12	5	In	49
13	In	In	In	In
Tétramisole	347	15	3	1
Lévamisole	1,3	0,49	0,13	0,07

phosphonates synthétisés, les déplacements chimiques, compris entre 20 et 25 ppm, sont compatibles avec les structures proposées.

p-Bromométhyl acétophénone 2

La *p*-bromométhyl acétophénone 2 est obtenue selon la méthode de Jarvis et Saukaitis [4] en traitant de façon radicale la *p*-méthyl acétophénone 1 commerciale.

p-Diéthylphosphonométhyl acétophénone 3

On dissout 19,9 g (0,093 mol) de *p*-bromométhyl acétophénone 2 dans 100 ml de toluène. Après addition d'un excès de triéthylphosphite, on porte au reflux du toluène pendant 5 h. L'huile obtenue après évaporation sous pression réduite du solvant est distillée. Eb_{0,4mm} = 150°C; Rdt = 50%. R_f = 0,80 (C₂H₅OH); IR (film) (ν, cm⁻¹): 3051, 3077, 2983, 2931 (CH₃, CH₂, CH); 1677 (C=O); 1606, 1569 (C=C); 1266 (P=O). RMN ¹H (CDCl₃) (δ, ppm): 1,26 (t, 6H, CH₃; J = 8 Hz); 2,56 (s, 3H, C(O)CH₃); 3,2 (d, 2H, CH₂-P; J = 22 Hz); 4,03 (m, 4H, O-CH₂; J = 8 Hz); 7,40 (dd, 2H, H₂, H₆; J = 8 Hz et 2 Hz); 7,9 (d, 2H, H₃, H₅; J = 8 Hz).

4-Bromoacétyldiéthylphosphonométhylbenzène 4

Dans un ballon tricol de 500 ml surmonté d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome, on place 12,8 g (0,0474 mol) de 3 dissous dans 150 ml d'acide acétique.

On ajoute goutte à goutte à froid 7,6 g (0,0474 mol) de brome dissous dans 100 ml d'acide acétique. Après 2 h d'agitation, on évapore l'acide acétique et l'on obtient, avec un rendement de 70%, une huile marron que l'on purifie par chromatographie sur gel de silice. Les caractéristiques physico-chimiques de 4 sont: n_D²⁰ = 1,5487; R_f = 0,85 (C₂H₅OH). IR (film) (ν, cm⁻¹): 3033, 2982, 2935, 2907 (CH₃, CH₂, CH); 1677 (C=O); 1604, 1569 (C=C); 1247 (P=O). RMN ¹H (CDCl₃) (δ, ppm): 1,26 (t, 6H, CH₃; J = 8 Hz); 3,20 (d, 2H, CH₂-P; J = 22 Hz); 4,13 (m, 4H, O-CH₂; J = 8 Hz); 4,36 (s, 2H, CH₂Br); 7,40 (dd, 2H, H₂, H₆; J = 8 Hz et 2 Hz); 7,90 (d, 2H, H₃, H₅; J = 8 Hz).

Par la suite, nous avons utilisé, après contrôle par RMN, le produit brut tel quel, sans purification préalable.

Méthode générale de synthèse des hétérocycles 5 à 13

On dissout 3,48 g (0,011 mol) de 4-bromoacétyldiéthylphosphonométhylbenzène 4 dans 100 ml d'acétonitrile. A

l'aide d'une ampoule à brome, on ajoute goutte à goutte 0,011 mol du nucléophile bifonctionnel choisi dissous également dans 100 ml d'acétonitrile. On agite 1 h à froid, on chauffe au reflux pendant 12 h et après refroidissement, on élimine par évaporation l'acétonitrile. Le mélange réactionnel est alors repris par 150 ml d'éthanol anhydre et chauffé à reflux pendant 2 h. Après évaporation du solvant, le bromhydrate obtenu est solubilisé dans l'eau et l'on neutralise cette solution par l'addition de carbonate de sodium. On extrait alors au chloroforme et l'on sèche sur sulfate de magnésium. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite, le produit brut obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. Les caractéristiques spectrales des composés **5** à **13** figurent ci-dessous.

4-[2-Imidazo[1,2-a]pyrimidyl]benzylphosphonate de diéthyle 5
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3006, 3085, 3021, 2984, 2929 (CH_3 , CH_2 , CH); 1614 ($\text{C}=\text{C}$); 1547 ($\text{C}=\text{N}$); 1238 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,21 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,16 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 22$ Hz); 4,09 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 6,8 (dd, 1H, H_6 ; $J = 6,7$ et 4,2 Hz); 7,34 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8$ et 2 Hz); 7,78 (s, 1H, H_3); 7,93 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 8$ Hz); 8,41 (dd, 1H, H_7 ; $J = 6,7$ et 2 Hz); 8,46 (dd, 1H, H_5 ; $J = 4,2$ et 2 Hz).

4-[2-Imidazo[1,2-a]pyridyl]benzylphosphonate de diéthyle 6
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 2983, 2931, 2909 (CH_3 , CH_2 , CH); 1604 ($\text{C}=\text{C}$); 1526 ($\text{C}=\text{N}$); 1230 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,24 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,19 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,6$ Hz); 4,02 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 6,75 (m, 1H, H_6 ; $J = 6,7$ Hz); 7,15 (m, 1H, H_7 ; $J = 6,7$ Hz); 7,37 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,2$ et 2,3 Hz); 7,61 (m, 1H, H_8 ; $J = 8$ Hz); 7,84 (s, 1H, H_3); 7,9 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 7,8$ Hz); 8,10 (m, 1H, H_5 ; $J = 6,7$ Hz).

4-[6-(2,3-Dihydro)imidazo[2,1-b]thiazolyl]benzylphosphonate de diéthyle 7
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3191, 3124, 3040, 3021, 2977, 2931, 2910, 2869 (CH_3 , CH_2 , CH); 1610 ($\text{C}=\text{C}$); 1545 ($\text{C}=\text{N}$); 1242 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,23 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,14 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,6$ Hz); 3,82 (t, 2H, H_2 ; $J = 7,2$ Hz); 3,99 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 4,19 (t, 2H, H_3 ; $J = 7,2$ Hz); 7,23 (s, 1H, H_5); 7,3 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 7,74$ et 2,5 Hz); 7,65 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 8$ Hz).

4-[6-Imidazo[2,1-b]thiazolyl]benzylphosphonate de diéthyle 8
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3133, 3115, 3071, 3040, 2977, 2948, 2909 (CH_3 , CH_2 , CH); 1608 ($\text{C}=\text{C}$); 1543 ($\text{C}=\text{N}$); 1243 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,21 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,14 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,6$ Hz); 3,96 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 6,78 (d, 1H, H_2 ; $J = 4,5$ Hz); 7,3 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,4$ et 2,6 Hz); 7,38 (d, 1H, H_3 ; $J = 4,4$ Hz); 7,69 (s, 1H, H_5); 7,73 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 8,4$ Hz).

4-[6-(2-Phenyl)imidazo[2,1-b]thiadiazolyl]benzylphosphonate de diéthyle 9
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3125, 3101, 3071, 3063, 2977, 2979, 2947, 2931, 2900 (CH_3 , CH_2 , CH); 1604 ($\text{C}=\text{C}$); 1542 ($\text{C}=\text{N}$); 1246 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,26 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,19 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,7$ Hz); 4,04 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 7,37 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,4$ et 2,5 Hz); 7,53 (m, H_3 , H_4 , H_5); 7,82 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 8,5$ Hz); 7,90 (m, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 3,6$ et 2,1 Hz); 8,0 (s, 1H, H_3).

4-[2-Thiazolo[2,1-b]benzimidazolyl]benzylphosphonate de diéthyle 10
IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3065, 2951, 2922, 2907 (CH_3 , CH_2 , CH); 1603 ($\text{C}=\text{C}$); 1543 ($\text{C}=\text{N}$); 1225 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ ,

ppm): 1,33 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,21 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 22,2$ Hz); 4,09 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 7,31–7,36 (m, 5H, H_3 , H_5 , H_6 , H_7 , H_8); 7,65 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,4$ et 2,5 Hz); 8,0 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 7$ Hz).

4-[3-Imidazo[2,1-b]benzothiazolyl]benzylphosphonate de diéthyle 11

IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3080, 2981, 2931, 2898 (CH_3 , CH_2 , CH); 1543 ($\text{C}=\text{N}$); 1597 ($\text{C}=\text{C}$); 1241 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,27 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,16 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,8$ Hz); 4,04 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 7,35 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,4$ et 2,5 Hz); 7,47–7,53 (m, 4H, H_6 , H_7 , H_8 , H_9); 7,85 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 7,6$ Hz); 8,2 (s, 1H, H_4).

4-[3-(7-Methoxyimidazo[2,1-b]benzothiazolyl)]benzylphosphonate de diéthyle 12

IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3121, 3015, 2979, 2903 (CH_3 , CH_2 , CH); 1604 ($\text{C}=\text{C}$); 1549 ($\text{C}=\text{N}$); 1246 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,18 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,11 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,6$ Hz); 3,80 (s, 1H, OCH_3); 3,93 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 6,93 (dd, 1H, H_8 ; $J = 8,8$ et 2,4 Hz); 7,13 (d, 1H, H_6 ; $J = 2,4$ Hz); 7,27 (dd, 2H, H_2 , H_6 ; $J = 8,3$ et 2,4 Hz); 7,43 (d, 1H, H_9 ; $J = 8,8$ Hz); 7,73 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 7,4$ Hz); 7,82 (s, 1H, H_4).

4-[3-(7-Nitroimidazo[2,1-b]benzothiazolyl)]benzylphosphonate de diéthyle 13

IR (KBr) (ν , cm^{-1}): 3091, 2981, 2924, 2855 (CH_3 , CH_2 , CH); 1603 ($\text{C}=\text{C}$); 1521 ($\text{C}=\text{N}$); 1500 ($\text{N}=\text{O}$); 1244 ($\text{P}=\text{O}$). RMN ^1H (CDCl_3) (δ , ppm): 1,19 (t, 6H, CH_3 ; $J = 7$ Hz); 3,12 (d, 2H, $\text{P}-\text{CH}_2$; $J = 21,7$ Hz); 3,97 (m, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2$; $J = 7$ Hz); 7,31 (dd, 1H, H_2 , H_6 ; $J = 8,3$ et 2,5 Hz); 7,66 (d, 1H, H_9 ; $J = 8,8$ Hz); 7,75 (d, 2H, H_3 , H_5 ; $J = 7,6$ Hz); 7,95 (s, 1H, H_4); 8,33 (dd, 1H, H_8 ; $J = 8,86$ et 2,2 Hz); 8,59 (d, 1H, H_6 ; $J = 2,2$ Hz).

Pharmacologie

Activité inhibitrice calcique

Tous les composés ont été essayés à la concentration de 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ selon un protocole déjà décrit [8] et inspiré de Polster [5].

Activité nématocide

Essai in vitro sur larves infectantes de *N. brasiliensis*. Ce modèle [9] utilise les larves infectantes L3 de ce nématode. Celles-ci sont obtenues par coproculture parasitaire pendant 14 jours à 27°C. Elles sont décontaminées par lavages successifs et mises en survie dans un milieu de culture pour cellules de mammifères, constitué de RPMI 1640, de sérum fœtal de veau à 10% et d'antibiotiques usuels. L'incubation se fait à l'obscurité, à 37°C, sous une atmosphère air + CO_2 pendant 4 jours. Dans un puits d'un volume de 2,8 ml, d'une plaque Falcon de 24 puits, sont introduits 1,5 ml de milieu, 20 larves infectantes et la solution, dans l'eau ou le DMSO, du produit à tester sous un volume de 10 μl .

La vitalité des larves est notée au bout de 24 h (J_2) et de 4 jours (J_5). Pour chaque plaque, deux puits sont utilisés par concentration et 4 puits témoins ne reçoivent que l'excipient utilisé (80 larves). La répartition et la lecture des résultats sont rendus en pourcentage de larves immobiles et considérées comme mortes, en tenant compte de la mortalité des témoins. Ils sont exprimés en CE_{50} , calculée par régression linéaire à partir d'une courbe % mortalité *versus*-log dose.

Essai in vitro sur larves infectantes de *M. dessertae*. Les larves sont obtenues par dissection des moustiques vecteurs et mainte-

nues en survie dans un milieu pour cellules de vertébrés à 37°C [10]. Les moustiques *Aedes aegypti*, infectés 20 jours auparavant sur rongeurs microfilariens, sont disséqués et les larves sont décontaminées par lavages successifs avec le milieu de survie stérile, identique au précédent. Au terme de l'essai, soit après 7 jours, on détermine le pourcentage de larves survivantes par rapport aux témoins. Les résultats sont donnés en CE_{50} comme précédemment.

Références

- 1 Yoshino K, Khono T, Uno T, Morita T, Tsukamoto G (1986) *J Med Chem* 29, 820–825
- 2 Davey D, Erhardt PW, Lumma Jr W, Wiggins J, Sullivan M, Pang D, Cantor E (1987) *J Med Chem* 30, 1337–1342
- 3 Hantzsch A (1888) *Liebigs Ann Chem* 249, 1–31
- 4 Jarvis B, Saukaitis JC (1973) *J Am Chem Soc* 95, 7708–7715
- 5 Polster M, De Claviere P (1981) *Biochemical Pharm* 30, 897–901
- 6 Tchani GW (1991) Thèse INP, Toulouse
- 7 Morita T, Kunimoto K, Tsuda M, Tada S, Kise M, Kimura K (1987) *Chem Pharm Bull* 35, 10, 4144–4154
- 8 Mouysset G, De Saqui-Sannes G, Younes S, Bellan J, Payard M, Tisne-Versailles J (1990) *Il Farmaco, Ed Sci* 45, 9, 945–952
- 9 Bories C, Loiseau P, Legrand C, Gayral P (1987) *Bull Soc Fr Parasitol* 5, 75–80
- 10 Boris C, Loiseau P, Gueyouche C, Gayral P (1986) *J Pharmacol (Paris)* 17, 301–307