

Réaction des cyanoépoxydes avec le 2-mercaptobenzimidazole et la 2-aminothiazoline et évaluation biologique des produits formés

S Jaguelin¹, A Robert², P Gayral^{2*}

¹Groupe de recherches de chimie structurale, CNRS UA 704, Université de Rennes, 35042 Rennes;

²Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Pharmacie, Université de Paris Sud, 92290 Châtenay-Malabry, France

(Reçu le 18 octobre 1988; accepté le 12 juin 1990)

Résumé — Les deux carbones du cycle des époxydes gem dicyano et des époxydes α -cyano α -esters se comportent, dans le bilan réactionnel, comme des sites électrophiles lorsque ces composés sont opposés au 2-mercaptobenzimidazole. La réaction permet de préparer des 2,3-dihydrobenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles. Ce comportement des époxydes n'est cependant plus observé au cours de la réaction de ces composés avec la 2-aminothiazoline. Certains des composés synthétisés ont révélé des propriétés anthelminthiques.

Résumé — **Reaction of cyanoepoxides with 2-mercaptobenzimidazole and 2-aminothiazole and biological assessment of products formed.** The two carbons of the epoxide ring of the gem-dicyano epoxides and α -cyano α -ester epoxides act as electrophilic centers when these compounds are reacted with 2-mercaptobenzimidazole. The reaction leads to 2,3-dihydrobenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles. However, such a reactivity of the epoxides is not observed during their reaction with 2-aminothiazoline. Some of the synthesized compounds showed anthelmintic properties.

dicyano epoxides / 2,3-dihydrobenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles / antiparasitical properties

Introduction

Dans le cadre de l'étude des propriétés antiparasitaires d'analogues structuraux du tétramisole [1], (6-phényl-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazole), nous nous sommes proposés de mettre à profit l'originalité des cyano époxydes en examinant les possibilités de synthèse d'imidazothiazoles substitués à partir des époxydes **1** et **2**.

En effet, l'ouverture des gem dicyano époxydes **1** par les dérivés de la thiourée ou des thioamides conduit, *via* des cyanhydrines instables, à des intermédiaires très réactifs substitués par le groupement cyanoformyle. Ces intermédiaires subissent une hétérocyclisation par réaction entre le groupe cyanoformyle et le second site nucléophile du réactif de départ [2-7]. Dans leurs bilans, ces réactions font apparaître les 2 carbones du cycle des époxydes **1** comme des sites électrophiles.

Nous décrivons successivement la réaction des époxydes **1** ou **2** avec le 2-mercaptobenzimidazole et avec la 2-aminothiazoline.

L'évaluation antiparasitaire des composés synthétisés est faite comparativement au tétramisole sur plusieurs modèles de parasitoses expérimentales *in vitro* et *in vivo*.

Chimie

De même que les époxydes **1** réagissent avec la 2-thioxo imidazolidine pour donner des 2,3,5,6-tétrahydroimidazothiazoles substitués [6], les époxydes **1** réagissent à la température ambiante avec le 2-mercaptobenzimidazole pour donner les 2,3-dihydro-2-aryl-3-oxobenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles **5**. Contrairement au composé **5** (X = NO₂) qui s'hydrolyse très rapidement [6], les composés **5** (X = H; X = Cl) sont stables en solution aqueuse (voir *Protocoles expérimentaux*) (schéma 1).

Une réaction analogue est observée lorsque l'époxyde **2** est opposé au 2-mercaptobenzimidazole. L'intermédiaire **8** conduit après hétérocyclisation à un mélange des 2,3-dihydro-2-aryl-3-carboxyéthyl-3-hydroxybenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles isomères **9** (50%) et **10** (50%) dont la structure est établie à partir des spectres IR, RMN et de masse (schéma 2).

*Correspondance et tirés à part

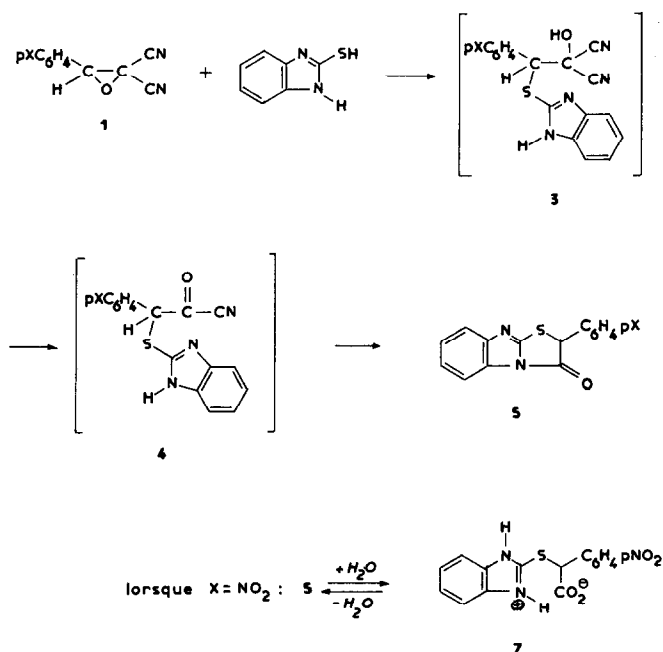


Schéma 1. Réaction des époxydes **1** avec le mercaptobenzimidazole.

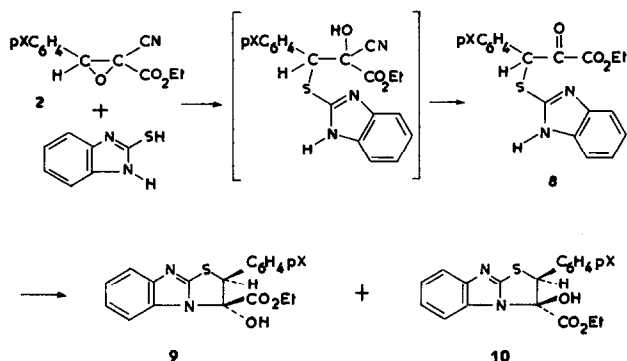


Schéma 2. Réaction des époxydes **2** avec le mercaptobenzimidazole.

On distingue aisément les isomères **9** et **10** puisque la présence d'un groupement aryle en *cis* du groupe ester dans le composé **9** est à l'origine du blindage des protons du groupe OC_2H_5 relativement aux protons du groupe OC_2H_5 de l'isomère **10** (voir *Protocoles expérimentaux*).

Seul l'intermédiaire **8** ($X = \text{H}$) a été isolé mais il conduit à **9** ($X = \text{H}$) et **10** ($X = \text{H}$) par simple recristallisation dans de l'éthanol. En revanche, lorsque le 2-mercaptobenzimidazole est remplacé par le 2-mercapto-*N*-méthyl-imidazole, le composé **11** ne peut plus se cycliser et est isolé avec de bons rendements (schéma 3).



Schéma 3. Réaction des époxydes **2** avec le 1-méthyl-2-mercaptoimidazole.

Dans une étude consacrée aux relations entre la structure et l'activité de différents composés appartenant à une structure imidazothiazolique, Robert a montré que la présence d'un groupement phényle en 6 (sur le cycle imidazole) est indispensable pour que soit observée une activité anthelminthique [8]. Dans les réactions décrites plus haut, on remarquera qu'un groupe aryle provenant de l'époxyde **1** peut être fixé en position 2 (sur le cycle thiazole). Une réaction du même type entre les époxydes **1** et les amino-2-thiazolines conduirait à des 2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazolones substituées en position 5 ou 6 (sur le cycle imidazole) par un groupement aryle.

L'ouverture des époxydes **1** par la 2-aminothiazoline est cependant une réaction particulière qui conduit aux 6,7-dihydro-2-aryl-3-hydroxythiazolo[3,2-*a*]pyrimidine **14** et **15**. La suite des réactions décrites dans le schéma 4 permet de rendre compte de la formation des composés **14** et **15**. Alors que l'intermédiaire **4** substitué par un groupement cyanofomyle subit une hétérocyclisation avec élimination d'une molécule d'acide cyanhydrique, l'intermédiaire **12** pourrait évoluer vers une forme énolique **13** relativement stabilisée et capable de subir une hétérocyclisation par réaction entre les groupements cyano et imino (schéma 4). A l'appui de cette hypothèse on notera que les énols de structure proche de **13** sont isolés lorsque les époxydes **1** sont opposés à la 2-aminopyridine [9]. La formation prépondérante de l'isomère **14** (70%) relativement à l'isomère **15** (30%) est par ailleurs en bon accord avec une ouverture initiale prépondérante de l'époxyde **1** par attaque de l'azote du cycle thiazole qui est le site le plus nucléophile du 2-aminothiazole [10].

La réaction des époxydes **2** avec la 2-aminothiazoline ne permet pas non plus d'accéder aux imidazothiazoles. Dans ce cas, on observe en effet une réaction de la 2-aminothiazoline avec le groupe ester pour donner l'époxyde **16**. Cet époxyde **16** est stable même après 16 h de reflux dans du dioxane. Conformément à ce qui pouvait être attendu [11], l'hydrolyse chlorhydrique de l'époxyde **16** conduit à l'acide phénylacétique que nous avons caractérisé en le comparant avec un échantillon de référence (schéma 5).

Au terme de cette étude on peut dire que les 2 carbones du cycle des époxydes **1** et **2** sont des sites

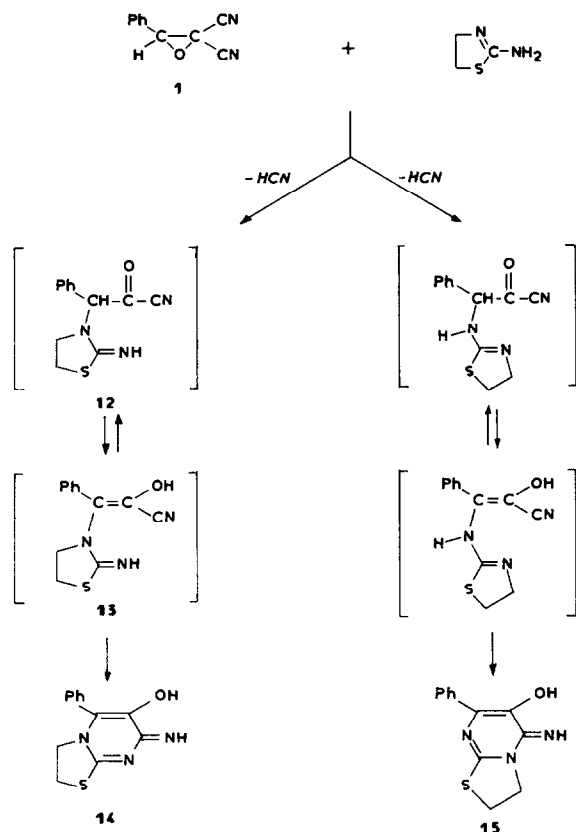


Schéma 4. Réaction des époxydes 1 avec la 2-aminothiazoline

électrophiles potentiels lorsque ces composés sont opposés au 2-mercapto-benzimidazole. La réaction ouvre ainsi une voie d'accès intéressante aux 2,3-dihydrobenzimidazo[2,1-*b*]thiazoles substitués 5, 9 et 10. La réaction évolue cependant de façon différente lorsque ces époxydes sont opposés aux 2-aminothiazolines et ne permet pas de préparer les imidazo-thiazoles espérés. Nous montrerons dans un prochain mémoire que cette difficulté peut être contournée à condition de faire réagir ces époxydes avec les halo-hydrates de 2-aminothiazolines.

Pharmacologie antiparasitaire

Plusieurs dérivés du benzimidazothiazole présentent des propriétés pharmacologiques : anticonvulsivantes [12], antifongiques et antibactériennes [13], antituberculeuses et antidépressives [14], anticancéreuses [15].

Il nous a semblé intéressant de réaliser un criblage antiparasitaire pour les benzimidazoles 5 et leurs

produits d'hydrolyse 7 ainsi que pour le mélange des isomères 9 et 10 et pour le composé 14.

L'activité sur helminthes a été évaluée *in vivo* avec un cestode *Hymenolepis nana* chez la souris et des nématodes *Syphacia obvelata*, oxyure de la souris et *Nippostrongylus brasiliensis*, parasite intestinal du rat. Un nématode libre, *Rhabditis pseudoelongata* a aussi été utilisé car il est très sensible au tétramisole. Enfin, un seul produit a été évalué sur *Schistosoma mansoni* chez la souris.

D'autre part, deux protozoaires, *Entamoeba histolytica* et *Trichomonas vaginalis* ont été étudiés *in vitro*. Les protocoles de ces différents essais ont été publiés dans des travaux antérieurs [17–20]. Ils sont brièvement rappelés dans la partie expérimentale.

Cet éventail de modèles donne une bonne estimation du pouvoir antiparasitaire et plus spécialement anthelminthique d'une substance.

Résultats et discussion

Les résultats sont portés dans le tableau II. Aucune toxicité n'a été relevée aux doses maximales utilisées, 200 mg/kg par voie orale, ou même 500 mg/kg dans le cas du composé 5 ($X = \text{NO}_2$). Ce dernier composé est

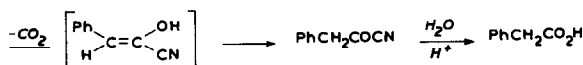
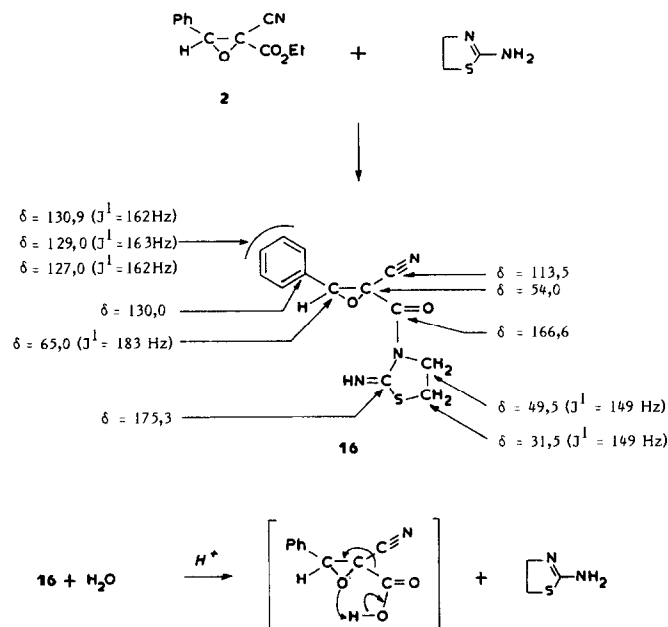


Schéma 5. Réaction des époxydes 2 avec la 2-aminothiazoline.

Tableau I. α Céto esters 11.

X	H	pCl	CH ₃	NO ₂
F°C	159	178	170	191
Rdt %	86	85	92	80
IR (CCl ₄)	1769(m) 1746(e)	1747(m)	1771(m) 1753(F)	1755(F)
ν C=O (cm ⁻¹)	1734(F)	1731(F)	1736(m)	1728(F)
RMN (CDCl ₃ +CF ₃ CO ₂ H)	δ CH ₅	5,12(s,1H)	5,25(s,1H)	5,07(s,1H)
	δ CHN	7,62(d,1H) ^a	7,62(d,1H) ^a	7,32(d,1H) 7,52(d,1H)
	δ CH ₂ O	4,12(q,2H)	4,17(q,2H)	4,15(q,2H)
	δ CH ₃ CH ₂	1,10(t,3H)	1,17(t,3H)	1,12(s,3H)
	δ CH ₃ -N	3,60(s,3H)	3,82(s,3H)	3,65(s,3H) 2,35(s,3H) ^b
	δ Ar	7,25(m,6H) ^a	7,25(m,5H) ^a	7,12(m,4H)
M ⁺	Calc	304,0881	338,0491	318,1038
	Tr	304,088	338,047	318,102
Analyse	(C, H, N, S)	(C, H, N, S, Cl)	(C, H, N, S)	(C, H, N, S)

^aUn hydrogène de l'imidazole conduit à un doublet inclu dans le massif aryle; ^b δ pCH₃C₆H₄

le seul qui paraisse intéressant. En effet, avec les composés **5** (X = Cl), **7** et **14**, aucune activité n'est décelée sur les protozoaires étudiés, ni sur *H. nana*, ni sur les nématodes parasites ou libres. Par contre, le composé **5** (X = NO₂) est inactif sur les protozoaires, mais actif à fortes doses (200 ou même 500 mg/kg) sur *H. nana* et sur *Syphacia obvelata*. Il est inactif sur les schistosomes et sur les autres nématodes.

Conclusion

Cette étude a permis la mise au point d'une voie d'accès originale à des analogues structuraux du tétramisole en faisant réagir des cyanoépoxydes avec le 2-mercaptobenzimidazole et la 2-aminothiazoline. Les propriétés antiparasitaires des composés synthétisés sont modestes comparées à celle du 1-tétramisole (lévamisole).

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les spectres RMN ¹H sont enregistrés à 80 MHz avec un spectrographe Bruker WP 80 et les spectres RMN ¹³C avec un spectrographe Bruker WP 80 DS. Les résultats sont donnés en 10⁻⁶ (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (référence interne). Les spectres de masse sont enregistrés avec un spectromètre de masse Varian Mat 311, les spectres IR avec un spectromètre Perkin-Elmer 225. Les points de fusion sont pris à l'aide d'un banc Kofler ou d'une platine chauffante équipée d'un microscope. Les analyses centésimales effectuées par le Service Central de Microanalyse du CNRS ont donné des résultats conformes aux normes habituelles; ils ne sont pas publiés et seuls sont indiqués les symboles des éléments dosés.

2,3-Dihydro-2-aryl-3-oxobenzimidazo [2,1-b] thiazoles **5**

10 mmol de 2-mercaptobenzimidazole et 10 mmol de gem dicyano époxydes [16] **1** sont dissoutes dans 100 ml d'acétone séchée sur CaCl₂. Cette solution est laissée sous atmosphère d'azote pendant 72 h. Le composé **5** est récupéré après évapo-

Tableau II. Activités antiparasitaires.

Produits	H nana			N brasiliensis			S obvelata			R pseudoelongata			
	Dose (mg·kg ⁻¹)	Nbre animaux	% Déparasité	Dose (mg·kg ⁻¹)	Nbre animaux	% Réduction	Dose (mg·kg ⁻¹)	Nbre animaux	% Déparasité	Mortalité en % 100 10 1 0,1 mg/l			
5 (X = NO ₂)	200	10	80	200	4	17	200	10	100	20	8	3	–
	100	10	15				100	10	30				
5 (X = Cl)	200	5	0	200	4	4	200	5	0	23	11	4	–
7	200	5	0	200	4	44	200	5	0	42	27	27	–
9 + 10	–	–	–	200	4	4	200	5	20	0	0	0	–
14	200	5	0	200	4	10	200	5	0	22	12	0	–
Lévamisole	–	–	–	10	4	99	40	5	100	100	100	73	16

ration du solvant et recristallisé dans EtOH. Contrairement à **5** (X = NO₂) [5], les composés **5** (X = Cl, H) ne sont pas hydrolysés même après 5 j en milieu aqueux, à la température ambiante. Le composé **5** (X = NO₂) a déjà été décrit [5].

5 (X = Cl): Rdt 90%; F = 136°C; masse, C₁₅H₉N₃O₂SCl, M⁺ calc 300,0124; trouvée 300,011; analyse (C, H, N, S, Cl); IR (Nujol) $\nu_{C=O}$ 1719 cm⁻¹; RMN (CDCl₃ + CF₃CO₂H) 5,60 (s, 1H); 7,20–8,00 (m, 8H). **5** (X = H) Rdt 90%; F = 142°C; C₁₅H₁₀N₃O₂S, M⁺ calc 266,0514, trouvée 266,054; IR (Nujol) $\nu_{C=O}$ 1730 cm⁻¹; RMN (CDCl₃ + CF₃CO₂H) 6,05 (s, 1H); 7,30–8,10 (m, 9H).

α -Ceto ester **8** et 2,3-dihydro-2-aryl-3-carboxyéthyl-3-hydroxybenzimidazo [2,1-b] thiazoles **9** et **10**

5 mmol d'époxyde ester **2** et 5 mmol de 2 mercaptobenzimidazole sont dissoutes dans 40 ml d'acétone et la solution est maintenue à 40°C pendant 24 h. Après évaporation du solvant, la RMN du résidu montre uniquement la présence de l' α ceto ester **8**. Ce composé **8** n'a été convenablement purifié (par des lavages successifs à l'alcool et à l'éther) que dans le cas où X = H. Ces ceto esters se cyclisent en effet par simple recristallisation dans de l'éthanol et conduisent aux 2,3-dihydrobenzimidazo[2,1-b]thiazoles isomères **9** (50%) et **10** (50%). Ce mélange des isomères **9** et **10** n'a pas pu être fractionné par des recristallisations dans de l'éthanol.

α -Ceto ester **8** (X = H): F = 200°C déc; masse C₁₈H₁₆N₂O₃S, M⁺ calc 340,0881, trouvée 340,088; IR (CCl₄) $\nu_{C=O}$ 1735 (e) cm⁻¹, 1724 (f) cm⁻¹. RMN (CDCl₃ + CF₃CO₂H) 1,17 (t, 3H); 4,37 (q, 2H); 5,20 (s, 1H); 7,12 - 7,75 (m, 9H).

2,3-Dihydro-2-aryl-3-carboxyéthyl-3-hydroxybenzimidazo [2,1-b] thiazoles **9** et **10**

(X = H) F = 158°C (EtOH); Rdt 90%; masse C₁₈H₁₆N₂O₃S, M⁺ calc 340,0881, trouvée 340,085; analyse (C, H, N, S); IR (CCl₄) ν_{OH} 3497 (L) cm⁻¹, $\nu_{C=O}$ 1737 (F) cm⁻¹. RMN (CDCl₃ + CF₃CO₂H) signaux correspondant à l'isomère **9** 0,95 (t, 3H); 3,95 (q, 2H); 6,05 (s, 1H); 7,25 - 7,62 (m, 9H); signaux correspondants à l'isomère **10** 1,40 (t, 3H); 4,57 (q, 2H); 6,20 (s, 1H); 7,25 - 7,62 (m, 9H).

Composés **9** et **10** (X = Cl): F = 206°C (EtOH), Rdt 87%; masse, C₁₈H₁₅N₂O₃SCl, M⁺ calc 374,0491, trouvée 374,048; analyse (C, H, N, S, Cl); IR (CCl₄) ν_{OH} 3505 (L) cm⁻¹, $\nu_{C=O}$ 1734 (F) cm⁻¹. RMN (CDCl₃ + CF₃CO₂H) signaux correspondants à l'isomère **9**; 1,02 (t, 3H); 4,05 (q, 2H); 6,02 (s, 1H); 7,25 - 7,87 (m, 8H); signaux correspondants à l'isomère **10**; 1,42 (t, 3H); 4,60 (q, 2H); 6,17 (s, 1H); 7,25 - 7,87 (m, 8H).

α -Ceto esters **11**

5 mmol d'époxyde **2** et 5 mmol de *N*-méthyl-2-mercaptimidazole sont dissoutes dans 40 ml d'acétone. La solution est laissée sous agitation pendant 24 h (un précipité apparaît après une dizaine d'heures). Les caractéristiques de ces composés recristallisés dans de l'éthanol sont rassemblées dans le tableau I. Un spectre de masse, enregistré selon la technique Mike confirme la structure proposée **11** puisqu'il permet de mettre en évidence pour le composé **11** (X = CH₃) un ion fragment situé à *m/e* = 217 provenant directement de l'ion moléculaire et correspondant à la perte du radical COCO₂Et. Un spectre de masse enregistré selon la technique défocalisante montre par ailleurs que l'ion fragment *m/e* = 217 est à l'origine de l'ion fragment observé à *m/e* = 133 et correspondant à l'ion radical pCH₃C₆H₄CS⁺.

6,7-Dihydro-2-aryl-3-hydroxy thiazolo[3,2-a]pyrimidine **14**, **15** 10 mmol de l'époxyde **1** (X = H) et 10 mmol de 2-amino thiazoline sont agitées à température ambiante dans 30 ml d'acétonitrile pendant 1 h. Le précipité obtenu (Rdt 45%) est un mélange des composés **14** (X = H, 70%) et **15** (X = H, 30%). La séparation des composés **14** et **15** est difficile par recristallisations fractionnées. En revanche, les composés **14** et **15** peuvent être filtrés successivement lors de la réaction. En effet, après 15 min d'agitation, le composé **15** de couleur jaune citron précipite et peut être filtré. Le filtrat est alors remis sous agitation et après 15 autres min un deuxième solide constitué d'un mélange des composés **14** et **15** précipite. Le troisième solide de couleur orangée que l'on filtre après avoir remis une nouvelle fois le filtrat sous agitation pendant 30 min est (généralement) le composé **14** pur. Lorsque cette réaction est réalisée au reflux de l'acétonitrile pendant 10 min, le composé qui se forme est le composé **14** pur à l'échelle de la RMN (Rdt 52%). **14**, F (EtOH) 300°C; **15**, F (EtOH) = 250°C. La structure des composés **14** et **15** est établie à partir des spectres de masse, IR et RMN ¹H, ¹³C.

14 (X = H) C₁₂H₁₁N₃OS M⁺ calc 245,0622; trouvée 245,061; analyse (C, H, N, S); IR (Nujol) 3280 (L) cm⁻¹, 1630 (f) cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃ + CF₃CO₂H) δ_{CH_2S} 3,60 (t, 2H); δ_{CH_2N} 4,30 (t, 2H); $\delta_{C_{6H_2}}$ 7,5 (m, 5H).

15 (X = H) C₁₂H₁₁N₃OS M⁺ calc 245,0622; trouvée 245,061; analyse (C, H, N, S); IR (Nujol) 3200 (L) cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃ + CF₃CO₂H) δ_{CH_2S} 3,80 (t, 2H); δ_{CH_2N} 4,75 (t, 2H); $\delta_{C_{6H_2}}$ 7,5 (m, 5H).

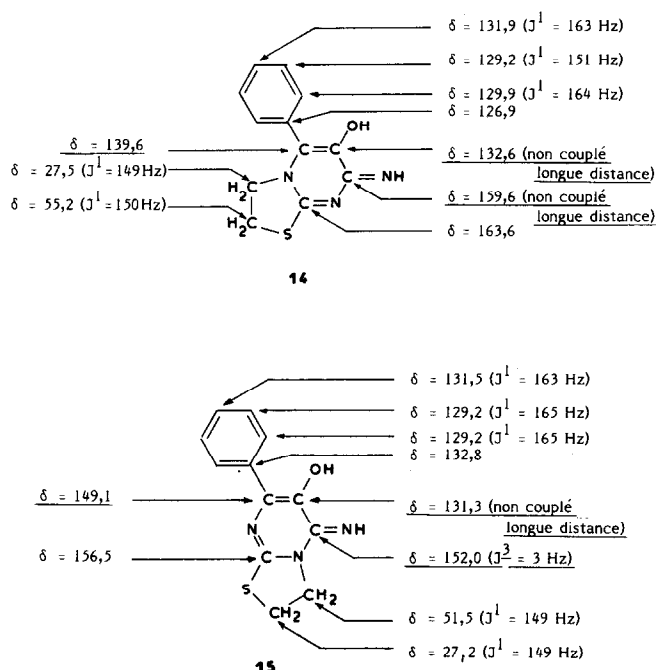


Schéma 6. Spectre RMN ^{13}C des composés **14** et **15**.

La comparaison des spectres RMN ^{13}C des composés **14** (X = H) et **15** (X = H) permet de confirmer les structures proposées pour chacun de ces isomères. Les déplacements chimiques ainsi que les constantes de couplage J sont donnés dans le schéma 6. L'examen des constantes de couplage à longue distance montre une différence importante entre ces deux spectres et permet de choisir entre les structures **14** et **15**. En effet, dans le cas du composé **14** les carbones se situant à 132,6 et 159,6 ppm ne sont pas couplés alors que, pour le composé **15**, si le carbone situé à 131,3 ppm n'est pas couplé, celui situé à 152,0 ppm est couplé en J^3 avec un CH_2 du groupement thiazolidino. On peut également noter dans ces spectres une différence importante en ce qui concerne le carbone porteur du groupement C_6H_5 du cycle diazine. Le déplacement chimique pour ce carbone est de 139,6 pour **14** et 149,1 pour **15**. Cette différence est attribuable à la différence d'hybridation des atomes d'azote directement liés à ce carbone dans les composés **14** et **15**.

Epoxyde **16**

5 mmol d'époxyde **2** (X = H) et 5 mmol de 2-amino thiazoline sont agitées pendant 24 h dans 30 cm^3 d'acétonitrile. Après évaporation de l'acétonitrile, l'huile résiduelle est reprise par de l'éthanol. Le composé **16** qui précipite est essoré. F (EtOH) = 163°C, Rdt 46%; masse (M^+ - HCN) $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$; m/e calc 246,0460, trouvée 246,045; analyse (C, H, N, S); IR (Nujol) 3300(L) cm^{-1} , 2239(f) cm^{-1} , 1639(F) cm^{-1} . RMN (CDCl_3 + $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$) 3,50 (t, 2H); 4,00 (t, 2H); 4,52 (s, 1H); 7,42 (s, 5H). RMN ^{13}C (CDCl_3 + $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$). Les valeurs des δ et des constantes de couplage J sont données dans le schéma 5.

Hydrolyse de l'époxyde **16**: 2 mmol d'époxyde **16** sont portées à reflux pendant 1 h dans un mélange contenant 10 ml d'HCl 4 N et 20 ml de dioxane. Après évaporation du solvant, l'huile est reprise par de l'eau et extraite au chloroforme. La

solution, séchée sur sulfate de sodium puis évaporée conduit à l'acide phénylacétique (Rdt 80%, F = 78°C) qui est identifié par comparaison de ses spectres IR et RMN avec un échantillon du commerce.

Parasitologie

Protocoles des essais antiparasitaires

Entamoeba histolytica, souche Rahman. L'activité anti-amibienne est évaluée *in vitro* en milieu de Pavlova-Jones, ensemencé par 10 000 amibes par ml. Les composés sont dissous dans le DMF (10 mg/ml) et distribués pour une concentration finale de 100,10 et éventuellement 1 mg/l. Une subculture est effectuée à 48 h à partir de la première concentration active. On détermine la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Trichomonas vaginalis, souche V. Le milieu liquide utilisé est celui au thioglycolate enrichi de 5% de sérum de cheval, ensemencé par 30 000 parasites au ml. On détermine la CMI de la même façon que pour *E. histolytica* après subculture à 48 h.

Hymenolepis nana. L'activité sur cestodes est déterminée *in vivo* chez la souris femelle parasitée depuis 19 jours. Le traitement est fait par administration d'une suspension par voie orale de 200 mg/kg du composé en une seule fois. On détermine le pourcentage de souris déparasitées le lendemain du traitement après purgation.

Essais sur *Schistosoma mansoni* chez la souris. Les souris sont infectées par immersion de la queue dans de l'eau contenant environ 100 furcocercaries. Après un délai de 6 semaines, elles sont traitées par le produit à évaluer administré par voie orale pendant 5 jours consécutifs à la posologie de 200 mg/kg/j. Les témoins ne reçoivent que l'excipient. Trois semaines plus tard, les souris sont autopsiées, les foies sont perfusés à contre courant. Les vers adultes sont récupérés du foie et de la circulation mésentérique et ils sont comptés par sexe. Lorsqu'aucun ver n'est retrouvé, on vérifie la présence des granulomes hépatiques centrés sur les œufs pour confirmer la disparition des parasites consécutivement au traitement. On compare statistiquement le nombre de vers chez les souris traitées et chez les témoins.

Nippostrongylus brasiliensis. Les rats (Charles River CD male) sont infectés par injection sous-cutanée de 200 à 300 larves; ils sont ensuite traités à J8 par voie orale en principe à 200 mg/kg et autopsiés à J10.

Le tube digestif est récupéré en totalité et on dénombre les vers adultes présents dans l'intestin. On détermine le pourcentage de réduction de la population de vers chez les rats traités par rapport aux témoins. En général, un lot de 4 rats a été traité aux posologies maximales indiquées.

Syphacia obvelata. Cet oxyure de la souris est entretenu expérimentalement par infection naturelle de souris neuves au contact de souris parasitées. Dix jours après ce contact les souris sont isolées et traitées par voie orale pendant 4 jours consécutifs. Le surlendemain elles sont autopsiées et on apprécie la présence ou non d'oxyures adultes dans le caecum. Les vers de petite taille ne sont pas comptés car ils proviennent de réinfections postérieures à l'essai. Pour chaque essai, 10 souris constituent les témoins de l'infection et 5 minimum sont utilisés pour chaque traitement. La mortalité par suite du traitement est notée.

Rhabditis pseudoelongata (souche IS). Ce nématode libre est entretenu sur un milieu à base de déjections de lapin. Il fut dénommé *Rhabditis macrocerca* par Kreiss et Faust, 1933 puis *Choriorhabditis elongata* par Schneider, 1966; son nom actuel est *Rhabditis (Rhabditella) pseudoelongata* (Micoletzky, 1913; Sudhaus, 1976). Les vers destinés aux essais sont récoltés après 9 à 10 jours de culture par une technique d'extraction type

Baermann. On introduit 1000 vers (larves et adultes) dans 10 ml d'eau déminéralisée ou de solution d'épreuve. Quatre flacons constituent les témoins et deux contiennent chaque solution. Les concentrations utilisées sont 1, 10 et 100 mg/l, à partir d'une solution mère à 10 mg/ml préparée dans le diméthylformamide.

Après 2 h de contact, les vers sont examinés à la loupe pour dénombrer ceux qui sont immobiles et considérés comme 'morts'. La mortalité observée est corrigée de la mortalité des témoins, qui se situe habituellement autour de 20%.

Les résultats sont donnés en pourcentage de mortalité pour chaque concentration; cependant, pour les substances de référence et les autres produits actifs, les concentrations létales 50 sont évaluées.

Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une aide à l'innovation de l'Anvar Bretagne que nous remercions.

Références

- 1 Symoens J, Rosenthal M (1977) *J Reticulo Endothel Soc* 21, 175; JF Robert (1974) thèse, Besançon
- 2 Ferrey M, Robert A, Foucaud A (1973) *CR Acad Sci* 277C, 1153-1155
- 3 Ferrey M, Robert A, Foucaud A (1976) *Synthesis* 261-262
- 4 Baudy M, Robert A (1976) *J Chem Soc Chem Comm* 23-24
- 5 Baudy M, Robert A, Foucaud A (1978) *J Org Chem* 43, 3732-3736
- 6 Baudy-Floc'h M, Robert A (1981) *Synthesis* 891-983
- 7 Souizi A, Robert A (1982) *CR Acad Sci* 295, 571-573
- 8 Robert JF (1978) *Ann Méd Univ Besançon* 4-5
- 9 Guinamant JL (1984) Thèse 3^e cycle, Rennes
- 10 Robert JF, Panouse JJ (1979) *J Heterocyclic Chem* 16, 1201-1207
- 11 Robert A, Foucaud A (1969) *Bull Soc Chim* 2537-2544
- 12 Singh JM (1970) *J Med Chem* 13, 1018
- 13 Ariès R (1968) Brevet français 1509, 192 ((1969); *Chem Abstr* 70, 57842 a
- 14 Wei PHL, Bell SC (1972) Brevet USA 3.704.239 ((1973); *Chem Abstr* 78, 43482 m; (1973) Brevet USA 3.775.426 ((1974); *Chem Abstr* 80, 70 807 u)
- 15 Tagliabue A, Allesandri G, Polenkarutti N, Mantorani A, Falantano E, Vecchi A, Garattini S, Spreapico F (1978) *Eur J Cancer* 14, 393-400
- 16 Pommeret JJ, Robert A (1971) *Tetrahedron* 27, 2977-2987
- 17 Gayral P, Bourdais J, Lorre A, Abenhaim D (1978) *Eur J Med Chem* 13, 171-175
- 18 Karmouta MG, Lafont O, Combet-Farnoux C, Miocque M, Rigotherier MC, Louchon B, Gayral P (1980) *Eur J Med Chem* 15, 341-349
- 19 Gayral P, Rigotherier MC, Gantier JC, Coumes RC, Gorrichon JP, Gaset A (1981) *Eur J Med Chem* 16, 151-155
- 20 Brienne MJ, Jacques J, Gayral P (1981) *Eur J Med Chem* 16, 363-366