

## Ouverture des gem dicyano époxydes par les halohydrates d'amines: application à la synthèse d'analogues structuraux du tétramisole et évaluation biologique

S Jaguelin<sup>1</sup>, A Robert<sup>1</sup>, N Genetet<sup>2</sup>, P Gayral<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Groupe de Recherches de Chimie structurale, Unité associée au CNRS, Université de Rennes, 35042 Rennes;

<sup>2</sup>Groupe de Recherches en Immunologie fondamentale et appliquée, Université de Rennes, 35042 Rennes;

<sup>3</sup>Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Pharmacie, Université de Paris Sud, 92290 Châtenay-Malabry, France

(Reçu le 17 mai 1989; accepté le 12 juin 1990)

**Résumé** — Des amides  $\alpha$ -halogénés sont obtenus en une seule opération par réaction des gem dicyano époxydes avec des halohydrates d'amines. Cette réactivité originale des gem dicyano époxydes est mise à profit pour préparer des imidazo[2,1-*b*]thiazoles substitués qui sont des analogues structuraux du tétramisole. Les principaux résultats concernant les criblages antiparasitaires et immunomodulateurs des thiazoles préparés sont également décrits.

**Summary** — **Opening of gem dicyano epoxides with amino hydrohalides: application to the synthesis of structural analogs of tetramisole and biological evaluation.**  $\alpha$ -halogenamides are prepared in a onepot reaction by reacting gem dicyano epoxides with amino hydrohalides. This original reactivity of gem dicyano epoxides is used to prepare substituted [2,1-*b*]imidazothiazoles which are structural analogs of tetramisole. The main results of the antiparasitic and immunomodulating screenings are also described.

**cyano epoxides / halohydrate amines / imidazo[2,1-*b*]thiazoles / structural analogs tetramisole / antiparasitic and immunomodulating properties**

### Introduction

La découverte de nouvelles substances immunomodulatrices et antiparasitaires est une véritable nécessité en particulier pour palier aux phénomènes de chimiorésistance et d'intolérance fréquemment rencontrés avec les produits actuels.

C'est dans ce double objectif que ce travail a été mené sur une série proche du lévamisole (1-tétramisole), un nématocide et immunomodulateur connu.

D'un point de vue chimique, la synthèse d'analogues structuraux du tétramisole est envisagée en utilisant une voie d'accès originale par réaction des gem dicyano époxydes avec des halohydrates d'amines.

Les essais biologiques sont ensuite effectués sur différents modèles expérimentaux d'évaluation d'activités immunomodulatrices et antiparasitaires dans le but de dégager des relations structure chimique–activité biologique.

Nous avons montré que les 2 carbones du cycle des gem dicyano époxydes se comportent comme des sites électrophiles lorsque ces composés sont opposés à des réactifs biélectrophiles thiocarbonylés comme la thiourée ou les thioamides. L'ouverture de l'époxyde par le réactif nucléophile thiocarbonylé conduit, *via* une cyanhydrine instable à un intermédiaire très réactif substitué par un groupement cyanoformyle et capable de subir une hétérocyclisation. La réaction constitue une voie d'accès intéressante à de nombreux hétérocycles de la série du thiazole [1–6]. La réaction n'a cependant pas pu être appliquée à la synthèse des imidazoles puisque les 2 carbones du cycle des époxydes **1** ne se comportent plus comme des sites électrophiles lorsque des amines, des 2-amino-pyridines ou des 2-aminothiazolines leur sont opposés [7–8].

Nous nous proposons de montrer, dans ce mémoire, que le caractère biélectrophile potentiel des 2 carbones du cycle des époxydes **1** peut être retrouvé lorsque ces composés sont opposés à des halohydrates d'amines.

\*Correspondance et tirés à part

Certains des composés ayant, soit une analogie avec le tétramisole, soit une structure d'imidazo-[2,1-*b*]thiazole potentiel, ont été soumis à des essais d'activités antiparasitaires et immunomodulatrices.

## Chimie

Les amides arylacétiques **4** sont facilement obtenus lorsque les époxydes **1** en solution dans de l'acétonitrile sont traités avec la quantité stoechiométrique d'hydracide en solution aqueuse, à la température ambiante pendant 16 h. Les intermédiaires postulés **2** et **3** sont très réactifs et n'ont jamais été isolés (schéma 1). Les amides  $\alpha$ -fluorés sont obtenus en faisant réagir les époxydes en solution dans du dichlorométhane avec un mélange HF/pyridine et en additionnant dans un second temps une solution concentrée d'ammoniaque. La réaction qui nécessite la présence de 2 groupes partants en position géminée sur l'époxyde n'est pas limitée aux époxydes **1**. Nous avons, en effet, montré que le 2,2-dicyano, 3-méthyl-3-phényloxirane **5** conduit dans des conditions analogues au 2-fluoro-2-phénylpropanamide **6**.

Les amides  $\alpha$ -halogénés **4** sont caractérisés par leurs spectres IR, RMN et de masse (tableau I).

Il y a lieu de souligner la double sélectivité observée au cours de cette réaction qui s'effectue en une seule opération: c'est toujours l'hydracide qui ouvre dans un premier temps le cycle de l'époxyde et l'halogénure se fixe uniquement sur le carbone substitué par le groupement aryle, et c'est toujours l'amine qui attaque dans un second temps le groupement cyanoformyle.

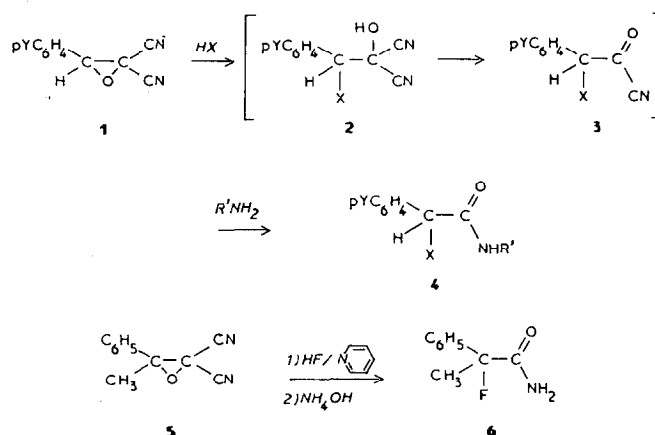


Schéma 1. Ouverture des époxydes **1** par les halohydrates d'amines.

Cette synthèse d'amides, halogénés de façon univoque en position  $\alpha$ , nous semble digne d'intérêt puisque des amides de ce type permettent d'accéder par exemple aux  $\alpha$ -lactames, aux dioxopipérazines ou aux oxazolidines [9, 10]. Dans le cadre d'un travail relatif à l'étude des propriétés antiparasitaires et immunostimulantes des analogues structuraux du tétramisole [11] (6-phényl 2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazole) nous sommes proposés d'appliquer ce type de synthèse à la préparation d'imidazothiazoles substitués. Nous avons donc opposé les halohydrates de 2-amino  $\Delta^2$ -thiazoline **7**, 2-aminothiazole **8** et 2-amino-5-*p*-chlorophényl thiazolin-4-one **9** aux époxydes **1**.

Tableau I. Amides  $\alpha$ -halogénés **4**  $\text{pYC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{X})\text{C}(=\text{O})\text{NHR}^1$ .

| Y               | X  | R <sup>1</sup>                  | Rdt (%) | F°C | Formules analyses                                 | Masse M <sup>+</sup> calc | Masse M <sup>+</sup> trouvée | IR (Nujol) cm <sup>-1</sup><br>ν <sub>CO</sub> (m) ν <sub>NH</sub> (L) | RMN (CDCl <sub>3</sub> + CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H)<br>δ <sub>R1</sub> | δ <sub>H</sub>                           | δ <sub>R</sub>                                          |
|-----------------|----|---------------------------------|---------|-----|---------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| H               | Cl | CH <sub>3</sub>                 | 80      | 76  | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> NOCl               | 183,0450                  | 183,044                      | 1655 3268                                                              | 2,80 (d, 3H)                                                                   | 5,40 (s, 1H)                             | 7,35 (m, 5H)                                            |
| Cl              | Br | CH <sub>3</sub>                 | 90      | 114 | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NOBrCl              | 260,9556                  | 260,952                      | 1669 3277                                                              | 2,90 (d, 3H)                                                                   | 5,40 (s, 1H)                             | 7,35 (m, 4H)                                            |
| Cl              | Cl | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> | 76      | 106 | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> NOCl <sub>2</sub> | 233,0188                  | 233,021                      | 1665 3270                                                              | 1,20 (t, 3H)<br>3,35 (m, 2H)                                                   | 5,35 (s, 1H)                             | 7,35 (m, 4H)                                            |
| Cl              | Br | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> | 90      | 120 | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> NOBrCl            | 274,9712                  | 274,971                      | 1650 3270                                                              | 1,20 (t, 3H)<br>3,30 (m, 2H)                                                   | 5,40 (s, 1H)                             | 7,35 (m, 4H)                                            |
| Cl              | Cl | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>   | 96      | 122 | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NOCl <sub>2</sub> | 279,0217                  | 279,021                      | 1662 3265                                                              | a                                                                              | 5,57 (s, 1H)                             | 7,35 (m, 9H)                                            |
| CH <sub>3</sub> | F  | H                               | 40      | 133 | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NOF                | 167,0746                  | 167,074                      | 1656 3380<br>3150                                                      | —                                                                              | 5,77 (d, 1H;<br>J <sub>HF</sub> = 47 Hz) | 2,40 (d, 3H;<br>J <sub>HF</sub> = 2 Hz)<br>7,25 (m, 4H) |

<sup>a</sup>δ<sub>R1</sub> confondu avec δ<sub>p</sub>ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.

Les époxydes **1** réagissent avec le chlorhydrate ou le bromhydrate de 2-amino  $\Delta_2$ -thiazoline **7** en 2 h à la température ambiante pour donner les amides  $\alpha$  halo-génés **10** (schéma 2; tableau II).

La structure isomère **11** a été éliminée sur la base des considérations suivantes: le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de l'amide  $\alpha$ -chloré **10** ( $Y = X = \text{Cl}$ ) présente un

doublet ( $J^2 = 4 \text{ Hz}$ ) pour le carbonyle, situé à 168,6 ppm. Un couplage  $J^3$  avec le groupe  $\text{CH}_2\text{-N}$  serait attendu pour l'isomère **11**; le spectre de masse (MIKE) du composé **10** ( $Y = X = \text{Cl}$ ) présente un ion fragment  $m/e = 129$  provenant directement de l'ion moléculaire et dont la décomposition conduit directement à l'ion radical  $m/e = 86$ .

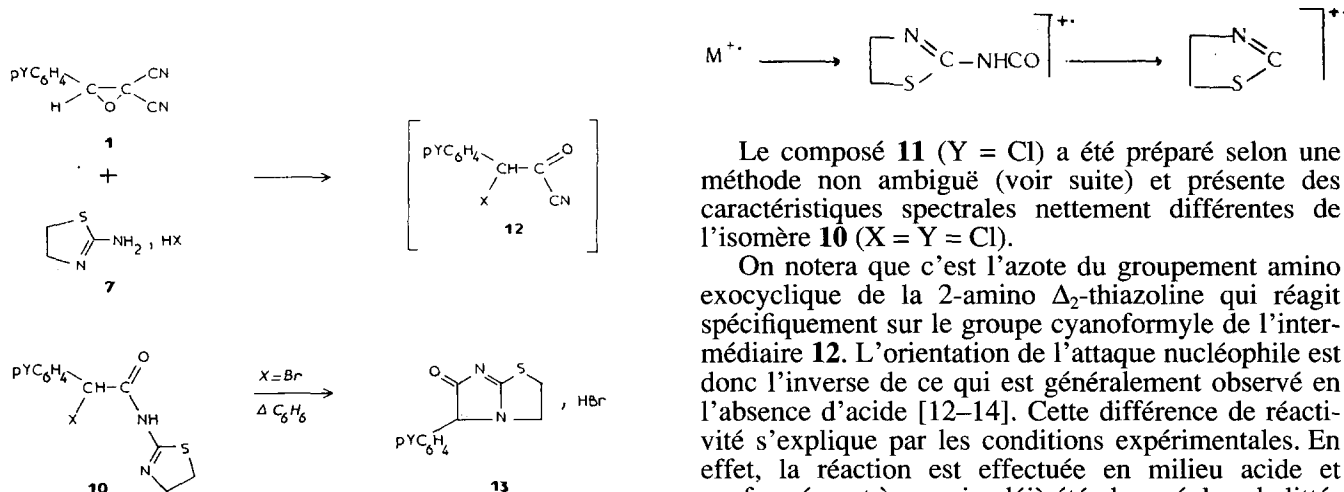


Schéma 2. Ouverture des époxydes **1** par un halohydrate de 2-aminothiazoline.

Le composé **11** ( $Y = \text{Cl}$ ) a été préparé selon une méthode non ambiguë (voir suite) et présente des caractéristiques spectrales nettement différentes de l'isomère **10** ( $X = Y = \text{Cl}$ ).

On notera que c'est l'azote du groupement amino exocyclique de la 2-amino  $\Delta_2$ -thiazoline qui réagit spécifiquement sur le groupe cyanoformyle de l'intermédiaire **12**. L'orientation de l'attaque nucléophile est donc l'inverse de ce qui est généralement observé en l'absence d'acide [12–14]. Cette différence de réactivité s'explique par les conditions expérimentales. En effet, la réaction est effectuée en milieu acide et conformément à ce qui a déjà été observé dans la littérature [15, 16], c'est l'azote endocyclique, le plus basique, qui est préférentiellement protoné, permettant une attaque exclusive de l'azote exocyclique.

Tableau II. Amides  $\alpha$ -halogénés  $\text{pYC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{X})\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ .

| Y             | X  | Rdt (%) | T°C | Formules analyses                                                              | Masse $M^{+}$ calc | Masse $M^{+}$ trouvée | IR (Nujol) $\text{cm}^{-1}$<br>$\nu_{\text{NH}}(\text{L})$ $\nu_{\text{CO}}(\text{m})$ | $\delta_{\text{CH}_2\text{-S}}$ | RMN ( $\text{CDCl}_3 + \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) ppm<br>$\delta_{\text{CH}_2\text{-N}}$ $\delta_{\text{H}}$ | $\delta_{\text{pYC}_6\text{H}_4}$ |
|---------------|----|---------|-----|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| H             | Cl | 70      | 178 | $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OSCl}$<br>(C, H, N, S, Cl)          | 254,0281           | 254,027               | 3250 1618                                                                              | 3,60 (t, 2H)                    | 4,20 (t, 2H) 5,60 (s, 1H)                                                                                           | 7,45 (m, 5H)                      |
| Cl            | Cl | 70      | 163 | $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OSCl}_2$<br>(C, H, N, S, Cl)        | 287,9891           | 287,991               | 3230- 1640                                                                             | 3,55 (t, 2H)                    | 4,20 (t, 2H) 5,60 (s, 1H)                                                                                           | 7,40 (m, 4H)                      |
| $\text{CH}_3$ | Cl | 75      | 163 | $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{OSCl}$<br>(C, H, N, S, Cl)          | 268,0437           | 268,042               | 3250 1630                                                                              | 3,60 (t, 2H)                    | 4,10 (t, 2H) 5,60 (s, 1H)                                                                                           | 7,30 (m, 4H)<br>2,35 (s, 3H)      |
| $\text{NO}_2$ | Cl | 60      | 167 | $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{C}_3\text{SCl}$<br>(C, H, N, S, Cl) | 299,0131           | 299,010               | 3250 1628                                                                              | 3,60 (t, 2H)                    | 4,20 (t, 2H) 5,75 (s, 1H)                                                                                           | 8,00 (m, 4H)                      |
| H             | Br | 95      | 130 | $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OSBr}$<br>(C, H, N, S, Br)          | 297,9775           | 297,977               | 3250 1625                                                                              | 3,50 (t, 2H)                    | 4,15 (t, 2H) 5,60 (s, 1H)                                                                                           | 7,40 (m, 5H)                      |
| Cl            | Br | 95      | 146 | $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OSBrCl}$<br>(C, H, N, S, Br, Cl)    | 331,9386           | 331,939               | 3150 1627                                                                              | 3,55 (t, 2H)                    | 4,20 (t, 2H) 5,55 (s, 1H)                                                                                           | 7,40 (m, 4H)                      |
| $\text{CH}_3$ | Br | 90      | 176 | $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{OSBr}$<br>(C, H, N, S, Br)          | 311,9931           | 311,993               | 3147 1628                                                                              | 3,40 (t, 2H)                    | 4,10 (t, 2H) 5,60 (s, 1H)                                                                                           | 7,30 (m, 4H)<br>2,30 (s, 3H)      |

L'hétérocyclisation des dérivés  $\alpha$ -bromés **10** nous a permis d'isoler les bromhydrates de 5-aryl 6-oxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazoles **13** (schéma 2). En revanche, le chlore étant moins bon nucléofuge que le brome, cette hétérocyclisation n'a pas été observée dans le cas des amides  $\alpha$ -chlorés **10** même après plusieurs jours d'ébullition dans du toluène. Les composés  $\alpha$ -bromés **10** étant facilement accessibles, nous n'avons pas cherché à réaliser la cyclisation des amides  $\alpha$ -chlorés dans d'autres conditions.

La réaction du 2-aminothiazole **8** avec l'époxyde **1** (X = H) en présence d'une quantité stoechiométrique d'acide bromhydrique en solution aqueuse permet également d'obtenir l'amide  $\alpha$ -bromé **14** (schéma 3). Nous ne sommes cependant pas parvenu à cycliser ce composé **14** en imidazo[2,1-*b*]thiazole. En revanche, le bromohydrate de 2-amino-5-*p*-chlorophénylthiazolin-4-one **9** [17] réagit à la température ambiante avec l'époxyde **1** pour donner directement le bromhydrate de 2-*p*-chlorophényl 3,6-dioxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazole **15** (schéma 3).

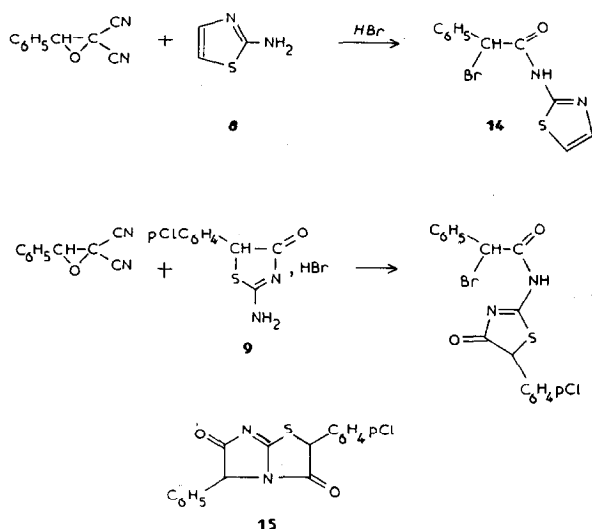


Schéma 3. Ouverture de l'époxyde **1** (Y = H) par les bromhydrates de 2-aminothiazole et de 2-aminothiazolinone **9**.

Il est intéressant de noter que les 5-aryl-6-oxoimidazo[2,1-*b*]thiazoles **13** et **15** peuvent être considérés comme des analogues structuraux du tétramisole. Cependant, la position du groupement aryle en 5 sur le cycle imidazole n'est pas celle que nous aurions pu souhaiter. En effet, le phényle en position 6 du tétramisole confère à ce composé des propriétés pharmacologiques [18]. L'isotétramisole pour lequel le groupement phényle se trouve en position 5 ne possède pas les propriétés anthelminthiques de son analogue structural le tétramisole [19].

Nous nous sommes proposés d'appliquer la méthode de synthèse précédente à la préparation des amides  $\alpha$ -halogénés **11** isomères de **10** et précurseurs d'imidazo[2,1-*b*]thiazoles substitués en position 6 par un groupe aryle. La suite des réactions décrite dans le schéma 4 a été réalisée avec succès et nous a permis d'accéder aux composés  $\alpha$  chlorés **17**, **18** et **11** ainsi qu'au 6-aryl 5-oxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazole **19**. La structure des composés préparés est établie dans la partie expérimentale.

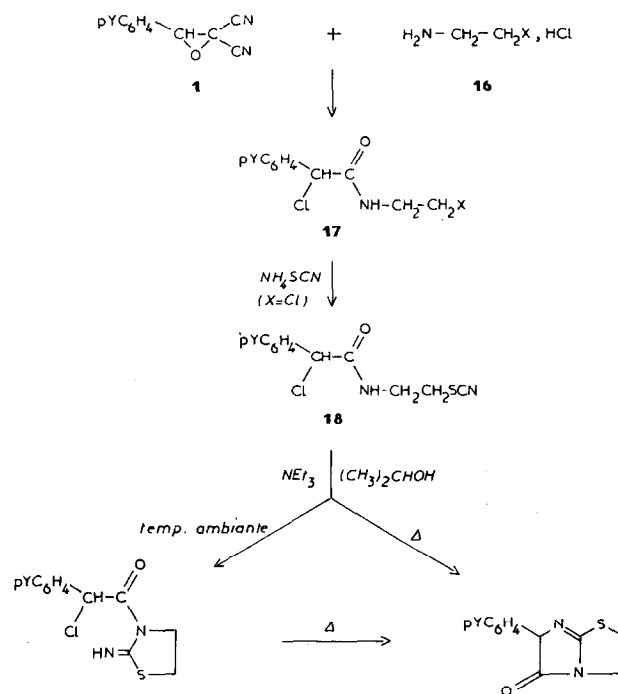


Schéma 4. Synthèse d'analogues du tétramisole à partir des époxydes **1**.

## Pharmacologie

### Activité immunomodulatrice

Le développement d'une réaction immunitaire est secondaire à une activation des lymphocytes T, étape initiale, qui peut être étudiée *in vitro* par le test de transformation lymphoblastique (TTL). La phyto-hémagglutinine (PHA) a la propriété d'activer les lymphocytes humains par liaison à des récepteurs membranaires de nature osidique et d'induire une transformation lymphoblastique suivie de mitoses. L'intensité de la prolifération cellulaire est mesurable par l'incorporation d'un précurseur radioactif de l'ADN (thymidine tritiée:  $T^3H$ ) dans les cellules en mitoses. Nous avons recherché une éventuelle activité

immunomodulatrice des *N*-thiazolinoamides  $\alpha$ -halogénés **10** sur la réponse proliférative des lymphocytes humains activés en culture par la PHA.

## Résultats et Discussion

Le composé **10** (Y = H, X = Cl) conduit dans 4 des 5 sujets testés à une augmentation de la réponse proliférative à la PHA (supérieure à la moyenne + 2 ET) pour des concentrations le plus souvent comprises entre  $10^{-3}$  et 1  $\mu\text{g/ml}$ .

Le composé **10** (Y = CH<sub>3</sub>, X = Br) s'est révélé actif pour 4 des 6 sujets testés, avec une amplification de la réponse à des concentrations variant de  $10^{-4}$  à 1  $\mu\text{g/ml}$ . Si la dose est égale ou supérieure à 10  $\mu\text{g/ml}$ , on observe une inhibition dans tous les cas. Les courbes montrent par ailleurs un phénomène oscillatoire. Celui-ci est à rapprocher des observations faites par Musatti *et al* [23] dans une étude sur le comportement du lévamisole dans le test des rosettes E.

Toutefois, dans nos essais, les concentrations actives sont supérieures à celles du tétramisole et, *a fortiori*, du lévamisole. De toutes façons des études complémentaires sont en cours (récepteur E, molécule

CD 3) afin de préciser l'origine de l'amplification proliférative observée qui pourrait être secondaire à des modifications de la membrane cellulaire, de structure ou de récepteurs impliqués dans le phénomène d'activation.

## Pharmacologie antiparasitaire

### Activité anthelminthique

Les propriétés anthelminthiques ont été évaluées *in vivo*, d'une part sur *Hymenolepis nana*, cestode parasitant la souris, et d'autre part sur deux nématodes: *Syphacia obvelata*, oxyure de la souris et *Nippostrongylus brasiliensis*, parasite intestinal du rat. De plus, un autre nématode, *Rhabditis pseudoelongata*, très sensible à l'action du tétramisole a été utilisé. Les résultats sont présentés dans le tableau III.

Seul l'imidazothiazolinone **19** (Y = Cl) présente une faible activité vis-à-vis de *Rhabditis pseudoelongata*. En effet, on observe 45% de mortalité après 2 h de contact à la concentration de 10 mg/ml. Le chlorhydrate de tétramisole, dans les mêmes conditions, tue 83% des larves et des adultes à la concentration de 10 mg/ml (*cf* [22]).

Tableau III. Amides  $\alpha$ -chlorés **17** et **18**  $\text{pYC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{Cl})\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{X}$ .

|                                                             | Y                                         | CH <sub>3</sub>                                  | Cl                                        | NO <sub>2</sub>                                             | H                                         | Cl                                                  |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|                                                             | X                                         | OH                                               | Cl                                        | Cl                                                          | Cl                                        | SCN                                                 |
|                                                             | $F(\text{EtOH})$                          | 102                                              | 82                                        | 90                                                          | 84                                        | 106                                                 |
|                                                             | $^{\circ}\text{C}$<br>$Rdt (\%)$          | 90                                               | 98                                        | 92                                                          | 96                                        | 70                                                  |
|                                                             | Formules                                  | $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Cl}$ | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NOCl}_3$ | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$ | $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NOCl}_2$ | $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OSCl}_2$ |
| Masses                                                      | calc                                      | 227,0713                                         | 264,9827                                  | 205,0613                                                    | 231,0217                                  | 287,9891                                            |
|                                                             | trouvée                                   | 277,72                                           | 264,982                                   | 205,060                                                     | 231,021                                   | 287,988                                             |
| IR Nujol $\text{cm}^{-1}$                                   | $\nu_{\text{NH(L)}}$                      | 3305                                             | 3270                                      | 3296                                                        | 3311                                      | 3275                                                |
|                                                             | $\nu_{\text{CO(m)}}$                      | 1640                                             | 1646                                      | 1654                                                        | 1648                                      | 1635, 2149 <sup>a</sup>                             |
| RMN<br>( $\text{CDCl}_3 + \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) | $\delta_{\text{CH}}$                      | 5,35 (s, 1H)                                     | 5,40 (s, 1H)                              | 5,50 (s, 1H)                                                | 5,40 (s, 1H)                              | 5,25 (s, 1H)                                        |
|                                                             | $\delta_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}}$ | 3,45 (t, 2H)<br>3,65 (t, 2H)                     | 3,70 (m, 4H)                              | 3,70 (m, 4H)                                                | 3,60 (m, 4H)                              | 3,65 (m, 4H)                                        |
|                                                             | $\delta_{\text{pYC}_6\text{H}_4}$         | 2,40 (s, 3H)                                     | 7,35 (s, 4H)                              | 7,90 (m, 4H)                                                | 7,40 (s, 5H)                              | 7,40 (s, 4H)                                        |
|                                                             |                                           | 7,20 (m, 4H)                                     |                                           |                                                             |                                           |                                                     |

<sup>a</sup> $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$

### Activité protozoocide

Deux modèles ont été utilisés pour l'étude *in vitro* de l'activité protozoocide: *Entamoeba histolytica* et *Trichomonas vaginalis*.

Les résultats sont présentés dans le tableau III. Une faible activité est observée vis-à-vis d'*Entamoeba histolytica* pour les composés **10**, **18** et **19**. Toutefois, la CMI sur *E. histolytica* comprise entre 10 et 100 µg/ml pour les composés **10** est nettement plus élevée que celle du métronidazole utilisé comme produit de référence (2–5 µg/ml).

### Conclusion

Puisque les époxydes de départ sont aisément accessibles et que leur réaction avec les halohydrates d'amine s'effectue dans des conditions relativement douces, la nouvelle méthode de synthèse des analogues structuraux du tétramisole que nous avons mise au point nous semble digne d'intérêt.

Les premiers résultats pharmacologiques montrent une faible activité des composés synthétisés mais permettent de dégager quelques principes de relations structure-activité. Afin que puisse se développer une activité 'tétramisole libre', il semble qu'il soit nécessaire de conserver l'intégralité de l'ensemble imidazo (2,1-*b*) thiazolique et que les structures, que l'on peut qualifier de potentielles, soient moins intéressantes. De plus, lorsque le cycle imidazothiazole existe, le substituant phényle, éventuellement substitué, doit se situer sur le sommet 6, confirmant ainsi certaines observations faites par d'autres auteurs [18, 19].

### Protocoles expérimentaux

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  sont enregistrés à 80 MHz avec un spectrographe Bruker WP 80 et les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  avec un spectrographe Bruker WP 8 DS. Les résultats sont donnés en  $10^{-6}$  (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (réf interne).

Les spectres de masse sont enregistrés avec un spectromètre Varian Mat 311, les spectres IR avec un spectromètre Perkin-Elmer n° 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.

#### $\alpha$ -Halogénoarylacétamides **4** ( $X = \text{Cl}, \text{Br}$ )

Cinq mmol d'époxyde **1** [4] sont mises en solution dans 20 ml d'acétonitrile; 1 ml d'hydride (HCl 12 N ou HBr 48%) et 5 mmol d'amine sont ajoutés au milieu réactionnel. La solution est laissée sous agitation pendant 16 h et le solvant est évaporé. L'huile résiduelle est reprise par de l'éther et lavée par de la soude N. La phase étherée est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée. L'amide  $\alpha$ -halogéné **4** qui précipite est essoré puis recristallisé dans de l'éthanol (tableau I).

#### 2-Fluoro-2-*p*-tolyl éthanamide **4** ( $X = \text{F}, Y = \text{Me}, R' = \text{H}$ )

A 5 mmol d'époxyde **1** ( $Y = \text{Me}$ ) en solution dans 10 ml de dichlorométhane dans un béccher en Téflon, on ajoute 20 ml d'une solution HF (70 g)/pyridine (30 g). Le milieu réactionnel est abandonné 3 j au réfrigérateur (2°C). Il est alors neutralisé par une solution d'ammoniaque à 28%. Après extraction à l'éther, la phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée. L'amide  $\alpha$ -fluoré précipite et est recristallisé dans de l'éthanol (tableau I).

#### 2-Fluoro-2-phénylpropanamide **6**

Le mode opératoire précédent est appliqué à l'époxyde **5**: **6**,  $F = 110^\circ\text{C}$ , Rdt 40%. IR (Nujol) 3400–3150  $\text{cm}^{-1}$  (L); 1659  $\text{cm}^{-1}$  (m). RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$   $\text{CH}_3$  1,93 (d, 3H;  $J_{\text{HF}} = 22$  Hz)  $\delta$   $\text{C}_6\text{H}_5$ : 7,00–7,75 (m, 5H). Masse calc pour  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{NOF}$  167,0746; trouvée: 167,074.

#### 2-Aryl-2-halogéno $N[\Delta_1\text{-thiazolino}]$ éthanamides **10**

Dix g de 2-amino  $\Delta_1$ -thiazoline sont agités dans 100 ml d'acétonitrile en présence de 10 ml d'hydride (HCl 12 N ou HBr à 48%) pendant 10 min. L'halohydrate d'amino-2  $\Delta_1$ -thiazoline est essoré, lavé par de l'acétonitrile, de l'éthanol puis par de l'éther. Dix mmol d'époxyde **1** et 10 mmol d'halohydrate de 2-amino  $\Delta_1$ -thiazoline sont agitées dans 30 ml d'acétonitrile pendant 2 h à la température ambiante. Le précipité de 2-aryl-2-halogéno  $N[\Delta_1\text{-thiazolino}]$ éthanamide **10** est essoré puis recristallisé dans EtOH (tableau II). Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de l'amide **10** ( $X = Y = \text{Cl}$ ) est donné dans le schéma 5.

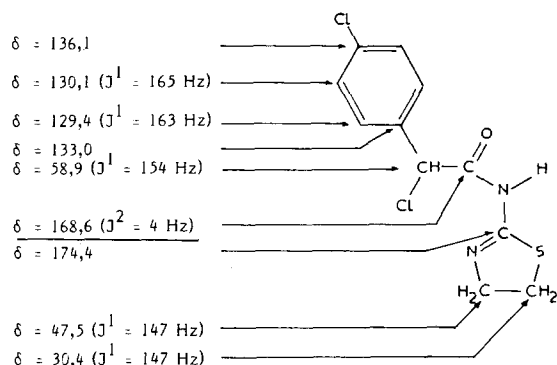


Schéma 5. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **10** ( $X = Y = \text{Cl}$ ).

#### 5-Aryl-6-oxo 2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazoles **13**

5 mmol de 2-aryl-2-bromo- $N[\Delta_1\text{-thiazolino}]$ éthanamide **10** sont portés à ébullition pendant 20 h dans 20  $\text{cm}^3$  de benzène. Après concentration de la moitié du solvant, le bromhydrate de 5-aryl-6-oxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazole **13** est filtré et lavé à l'éther puis recristallisé dans EtOH.

**13** ( $Y = \text{H}$ ), Rdt = 85%.  $F = 214^\circ\text{C}$ . IR:  $\nu_{\text{CO}} = 1755$   $\text{cm}^{-1}$  (m). RMN ( $\text{CDCl}_3 + \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ )  $\delta$  ppm: 3,50 (t, 2H); 4,10 (t, 2H); 6,00 (s, 1H); 7,35 (m, 5H). Masse  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$   $\text{M}^+$ . calc: 218,0514; trouvée: 218,051. Anal (C, H, N, S, Br).

**13** ( $Y = \text{CH}_3$ ), Rdt = 80%.  $F = 195^\circ\text{C}$ . IR (Nujol):  $\nu_{\text{CO}} = 1747$   $\text{cm}^{-1}$  (m). RMN ( $\text{CDCl}_3 + \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ )  $\delta$ : 2,30 (s, 3H); 3,40 (t, 2H); 4,10 (t, 2H); 5,60 (s, 1H); 7,30 (m, 4H). Masse  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$   $\text{M}^+$ . calc: 232,0670; trouvée: 232,066. Anal (C, H, N, S, Br).

### 2-Bromo-2-phényl-N-thiazoloacétamide 14

A une solution contenant 5 mmol d'époxyde **1** (Y = H) dissoutes dans 20 ml d'acétone, on ajoute 1 ml de HBr à 48% et 5 mmol de 2-aminothiazole **8** et on laisse sous agitation pendant 2 h. La solution est filtrée puis évaporée. Le précipité blanc qui se forme est le 2-bromo-2-phényl N-thiazoloacétamide **14** que l'on recristallise dans EtOH. Rdt 40%, F = 191°C, IR (Nujol) 3000 cm<sup>-1</sup> (L); 1670 cm<sup>-1</sup> (m). RMN (CDCl<sub>3</sub> + CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H) δ: 5,70 (s, 1H); 7,15–7,90 (m, 7H). Masse C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>OSBr: M<sup>+</sup>. calc: 295,9618; trouvée: 295,962. Anal (C, H, N, S, Br).

### 2-p-Chlorophényl-3,6-dioxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-b]thiazole 15

Cinq mmol d'époxyde **1** (Y = H) et 5 mmol de bromhydrate de 2-amino-5-p-chlorophényl thiazolin-4-one **9** [17] sont portées à ébullition dans 30 ml d'acétonitrile pendant 3,5 h. Le précipité de 2-p-chlorophényl 3,6-dioxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-b]thiazole **15** formé au cours de la réaction est essoré, lavé à l'acétonitrile puis recristallisé dans EtOH. Rdt 52%; F = 300°C; IR (Nujol) 3400-3000 cm<sup>-1</sup> (L); 1658 cm<sup>-1</sup> (F). Masse C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SCl: M<sup>+</sup>. calc: 342,0229; trouvée: 342,020. Anal (C, H, N, S, Cl).

### α-Chloroarylacétamides 17

Dix ml d'époxyde **1** et 10 mmol de chlorhydrate d'éthanolamine **16** (X = OH) (ou 10 mmol de chlorhydrate de chloro-2 éthylamine **16** (X = Cl) en suspension dans 40 ml d'acétonitrile sont portées à l'ébullition sous agitation pendant 1 h. Après évaporation du solvant l'α-chloro arylacétamide **17**, X = OH (ou X = Cl) précipite. Il est recristallisé dans de l'éthanol. Les principales caractéristiques des composés préparés sont regroupées dans le tableau IV.

### N-[2'-Thiocyanatoéthyl]-2-chloroarylacétamide 18

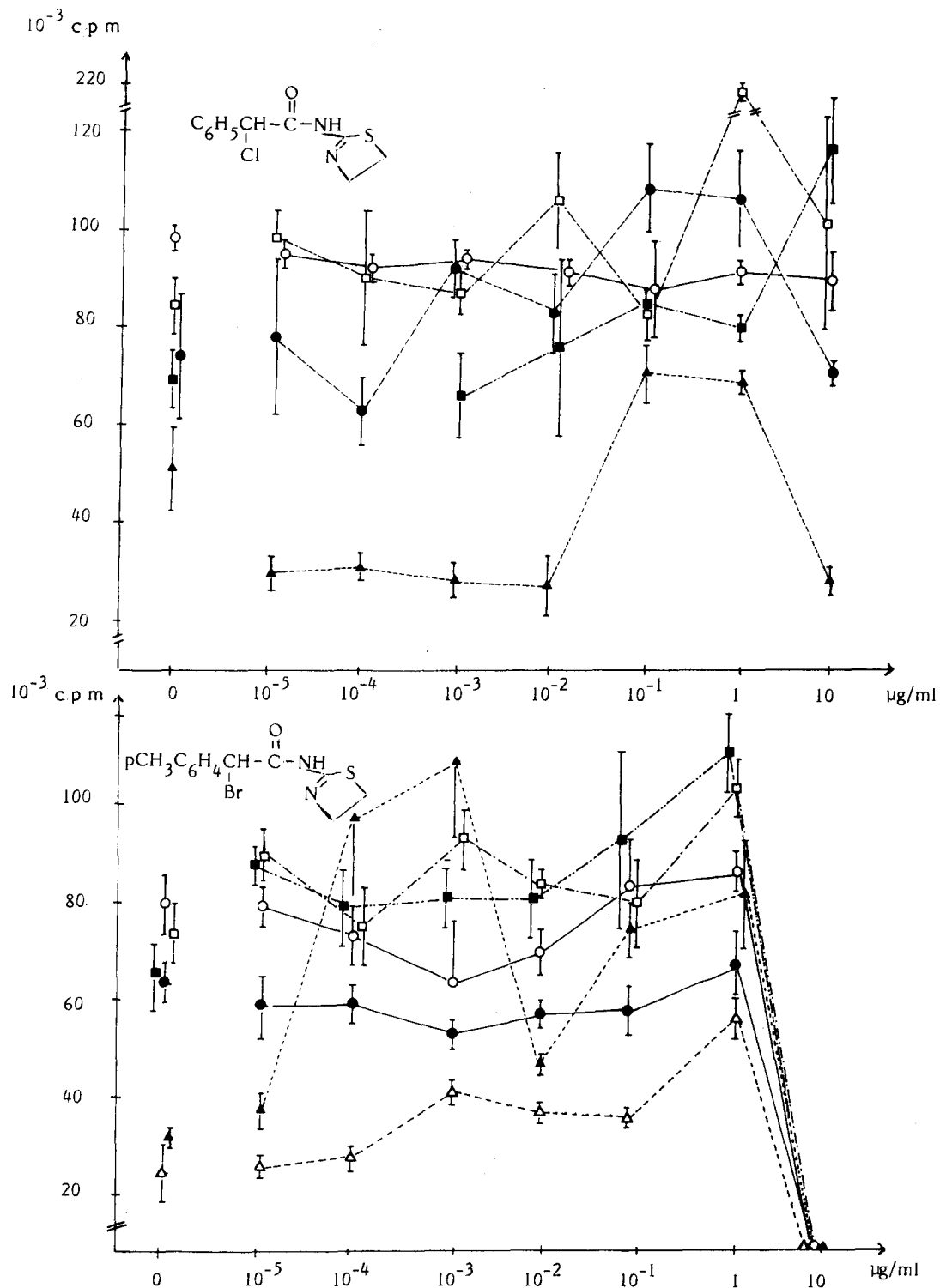
Le système biphasique constitué par le mélange d'une solution d'α-chloroarylacétamide **17** (X = Cl) (0,5 mmol) dans du toluène (30 ml) et d'une solution aqueuse (30 ml) de thiocyanate d'ammonium (1,5 g) et de chlorure de benzyltriéthylammonium (0,4 g) est porté à reflux pendant 24 h en maintenant une agitation vigoureuse. La phase organique est lavée par de l'eau, séchée sur sulfate de sodium puis évaporée. Le N-[2'-thiocyanatoéthyl]-2-chloroarylacétamide **18** qui précipite est recristallisé dans EtOH dans le cas du composé **18** (Y = Cl) (tableau IV) ou est directement utilisée pour préparer l'imidazothiazole **19** (Y = H) dans le cas du composé **18** (Y = H).

### α-Chloroarylacétamide 11

Trois mmol d'amide α-chloré **18** (Y = Cl), en suspension dans 30 ml d'isopropanol sont agitées à la température ambiante pendant 16 h en présence de 2 ml de NEt<sub>3</sub>. Après évaporation du solvant, l'huile obtenue est reprise par du chloroforme et lavée plusieurs fois à l'eau. La solution de chloroforme est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis évaporée. Le solide qui cristallise après évaporation du solvant est lavé par de l'éther et ne peut pas être recristallisé dans de l'éthanol puisqu'il se cyclise en imidazothiazole **19** dans ces conditions. Ce composé est pur à l'échelle de la RMN. F = 158°C, Rdt 80%; IR (Nujol) 3247 cm<sup>-1</sup> (L), 1625 cm<sup>-1</sup>. RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3,85 (t, 2H); 4,10 (t, 2H); 5,20 (s, 1H); 7,35 (m, 4H). Masse C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>OSCl<sub>2</sub>: M<sup>+</sup>. calc: 287,9890; trouvée: 287,988.

Tableau IV. Activité antiparasitaire.

| Produits                                                                                                                                                                                            | Nbre d'animaux | H nana Dose en mg·kg <sup>-1</sup> | Nbre d'animaux | % Déparasité | Nbre d'animaux | N brasilensis Dose en mg·kg <sup>-1</sup> | % Réd | Nbre d'animaux | S obvelata Dose en mg·kg <sup>-1</sup> | % Déparasité | R pseudoelongata Mortalité en % 100 mg/l | 10 l | 0,1 | E histolytica CMI | T vaginalis CMI |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------|----------------|--------------|----------------|-------------------------------------------|-------|----------------|----------------------------------------|--------------|------------------------------------------|------|-----|-------------------|-----------------|
| $\left\{ \begin{array}{l} Y = H, X = Cl \\ Y = CH_3, X = Cl \\ Y = CH_3, X = Br \\ Y = Cl, X = Cl \\ Y = pNO_2, X = Cl \\ Y = H, X = Br \\ Y = pNO_2, X = Br \\ Y = Cl, X = Br \end{array} \right.$ | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 3     | 5              | 200                                    | 0            | 21                                       | 7    | 7   | > 100             | 10-100          |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 35    | 5              | 200                                    | 0            | 33                                       | 22   | 12  | 10-100            | > 100           |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 48    | 5              | 200                                    | 0            | 21                                       | 18   | 9   | 10-100            | > 100           |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 33    | 5              | 200                                    | 0            | 22                                       | 21   | 10  | 10-100            | > 100           |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 45    | 5              | 200                                    | 0            | 25                                       | 12   | 10  | 10-100            | 10-100          |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 17    | 5              | 200                                    | 0            | 27                                       | 1    | 1   | 10-100            | > 100           |
| 18, 19,                                                                                                                                                                                             | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 20    | 5              | 200                                    | 0            | 22                                       | 5    | 0   | > 100             | > 100           |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 23    | 5              | 200                                    | 0            | 45                                       | 25   | 5   | > 100             | > 100           |
|                                                                                                                                                                                                     | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 9     | 5              | 200                                    | 0            | 14                                       | 5    | 4   | 10-100            | 10-100          |
| Y = Cl                                                                                                                                                                                              | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 200                                       | 0     | —              | —                                      | —            | —                                        | 45   | 15  | 9                 | > 100           |
| Lévamisole                                                                                                                                                                                          | 5              | 200                                | 4              | 0            | 4              | 10                                        | 99    | 5              | 40                                     | 100          | 100                                      | 73   | 16  | —                 | —               |



**Schéma 6.** Réponse proliférative des lymphocytes activés par la PHA et en présence de concentrations variables des composés 10 (Y = H, X = Cl) ou 10 (Y = CH<sub>3</sub>, X = Br) exprimée en moyenne des coups par minutes (cpm)  $\pm 1$  ET.

Le spectre de masse du composé **11** ( $X = \text{Cl}$ ) a été comparé à celui de son isomère **10** ( $X = Y = \text{Cl}$ ). Comme on pouvait s'y attendre l'ion fragment situé à  $m/e = 129$  qui provient directement de l'ion moléculaire dans le composé **10** (voir partie théorique) n'est pas observé dans le cas de l'amide **11**. En revanche, le composé **11** perd facilement une molécule de  $\text{HCl}$  conduisant ainsi à un pic intense situé à  $m/e = 252$ .

#### 6-Aryl-5-oxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-b]thiazole **19**

Lorsque la réaction précédente est réalisée à la température d'ébullition de l'isopropanol, on isole directement le 6-aryl-5-oxo-2,3,5,6-tétrahydroimidazo[2,1-b]thiazole **19** qui est recristallisé dans de l'éthanol.

**19**,  $Y = \text{Cl}$ ,  $F = 110^\circ\text{C}$ , Rdt 82%. IR (Nujol)  $\nu_{\text{CO}}$  1704  $\text{cm}^{-1}$  (F). RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3,75 (t, 2H); 4,40 (t, 2H); 5,55 (s, 1H); 7,35 (m, 4H). Masse  $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{OSCl}$ :  $M^{++}$  calc: 252,0119; trouvée: 252,012. Anal (C, H, N, S, Cl).

**19**,  $Y = \text{H}$ ,  $F = 138^\circ\text{C}$ , Rdt 75%. IR (Nujol)  $\nu_{\text{CO}}$  1704  $\text{cm}^{-1}$  (F). RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3,80 (t, 2H); 4,45 (t, 2H); 5,60 (s, 1H); 7,40 (s, 5H). Masse  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$ :  $M^{++}$  calc: 218,0513; trouvée: 218,052. Anal (C, H, N, S).

#### Pharmacologie

##### Protocole de recherche d'une activité immunomodulatrice

Les lymphocytes humains sont séparés stérilement du sang veineux hépariné par centrifugation sur un gradient de Ficoll triosil ( $d = 1,077$ ). Les cellules mononuclées sont recueillies à l'interface gradient-plasma, mis en suspension dans un milieu salin (Hanks) contenant des antibiotiques (pénicilline-streptomycine) et lavées par centrifugation dans ce même milieu. La suspension cellulaire est ajustée à  $10^6$  par ml dans un milieu de culture (199) contenant des antibiotiques et additionnée de glutamine et de 20% de plasma humain AB. Les cultures sont réalisées en 3 exemplaires, en microplaques de 96 cupules de 200  $\mu\text{l}$ . A 100  $\mu\text{l}$  de suspension cellulaire ( $10^5$  cellules) sont ajoutés 10  $\mu\text{l}$  d'une solution de PHA à 45  $\mu\text{g}/\text{ml}$  et 10  $\mu\text{l}$  d'une suspension de la molécule à tester à des concentrations variables dans le milieu de culture. Les contrôles sont réalisés en présence de PHA seule et en présence de chaque dilution de la molécule à tester en l'absence de PHA. Aucun des composés testés ne s'est révélé mitogénique, c'est-à-dire capable par lui-même d'induire la prolifération des lymphocytes en culture en l'absence de PHA. Les plaques de culture sont placées pour 72 h dans un incubateur à  $37^\circ\text{C}$  en atmosphère saturée en humidité et contenant 95% d'air et 5% de  $\text{CO}_2$ . Dix-huit h avant la fin de la culture 0,5  $\mu\text{Ci}$  de  $\text{T}^3\text{H}$  est ajouté à chaque puit de réaction. L'arrêt de l'incorporation est obtenu par refroidissement des cultures à  $4^\circ\text{C}$ . Le contenu cellulaire de chaque puit de culture est recueilli par filtre Whatman et lavé à l'aide d'un dispositif semi-automatique (multiple cell harvester). Les pastilles de filtre sont séchées à l'étuve, placées dans des fioles en plastique et additionnées de liquide de scintillation. L'incorporation de  $\text{T}^3\text{H}$  est appréciée au compteur  $\beta$  à scintillation liquide et les résultats sont exprimés en coups par minute (cpm).

Les essais sont réalisés sur au moins 4 suspensions de lymphocytes provenant de sujets adultes sains. La réponse proliférative des lymphocytes en culture en présence de chacune des concentrations testées est comparée à la réponse de référence en présence de PHA seule. Les résultats exprimés par la moyenne des cpm pour chaque triplet de culture sont représentés dans le schéma 6 pour les seuls composés **10**

( $Y = \text{H}$ ,  $X = \text{Cl}$ ;  $Y = \text{CH}_3$ ,  $X = \text{Br}$ ) qui modifient de façon significative la réponse proliférative des lymphocytes en culture stimulée par la PHA.

#### Protocoles de pharmacologie antiparasitaire

Les protocoles des différents essais ont été publiés dans des travaux antérieurs [19–22] et rappelés dans notre précédente publication.

#### Remerciements

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

#### Références

- 1 Ferrey M, Robert A, Foucaud A (1973) *C R Acad Sci (Paris)* 277C, 1153–1155
- 2 Ferrey M, Robert A, Foucaud A (1976) *Synthesis* 261–262
- 3 Baudy M, Robert A (1976) *J Chem Soc Chem Comm* 23–24
- 4 Baudy M, Robert A, Foucaud A (1978) *J Org Chem* 43, 3732–3736
- 5 Baudy-Floc'h M, Robert A (1981) *Synthesis* 981–983
- 6 Souizi A, Robert A (1982) *C R Acad Sci (Paris)* 295, 571–573
- 7 Guinamant JL, Robert A (1986) *Tetrahedron* 42, 1169–1177
- 8 Jaguelin S, Robert A, Gayral P (1991) *Eur J Med Chem* 26, 51–57
- 9 Scrimin P, D'Angeli F, Veronese AC (1982) *Synthesis* 586–587
- 10 Cavicchioni G, Scrimin P, Veronese AC, Balboni G, D'Angeli F (1982) *J Chem Soc Perkin Trans I* 2969–2972
- 11 Symoens J, Rosenthal M (1977) *J Reticulo Endothel Soc* 21, 175–220; Robert JF (1974) Thèse de Doctorat, Besançon
- 12 Chimetron SARL (1967) Brevet français 1488271; *Chem Abstr* (1968) 69.43909v
- 13 Padini JP, Lendway LL (1969) *J Med Chem* 12, 1031–1034
- 14 Janssen Pharmaceutica (1966) Brevet français 1 461394
- 15 Robert JF, Panouse JJ (1979) *J Heterocycl Chem* 16, 1201–1207
- 16 Elguero J, Marzin C, Katritzky AR, Linda P (1976) The tautomerism of heterocycles. In: *Advances in Heterocyclic Chemistry (Paris)* (Katritzky AR, Boulton AJ, eds) Academic Press, NY pp 427
- 17 Ferrey M, Robert A, Foucaud A (1973) *C R Acad Sci (Paris)* 277C, 1153–1155
- 18 Robert JF (1978) *Ann Med Univ Besançon* 4, 5
- 19 Brienne MJ, Jacques J, Gayral P (1981) *Eur J Med Chem* 16, 363–366
- 20 Gayral P, Bourdais J, Lorre A, Abenham D (1978) *Eur J Med Chem* 13, 171–175
- 21 Karmouta MG, Lafont O, Combet-Farnoux C, Miocque M, Rigotherier MC, Louchon B, Gayral P (1980) *Eur J Med Chem* 15, 341–349
- 22 Gayral P, Rigotherier MC, Gautier JC, Coumes RC, Gorrichon JP, Gaset A (1981) *Eur J Med Chem* 16, 151–155
- 23 Musatti CC, Daher S, Bernd LAG, Mendes NF (1983) *J Clin Immunol* 3, (4), 352–358