



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

 (51) Int. Cl.³: C 07 D 239/70
 A 61 K 31/495

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein



(12) FASCICULE DU BREVET A5

(11)

636 863

(21) Numéro de la demande: 12841/78

 (73) Titulaire(s):
 Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

(22) Date de dépôt: 18.12.1978

 (30) Priorité(s): 19.12.1977 US 861732
 21.09.1978 US 944434

 (72) Inventeur(s):
 Ken Matsumoto, Indianapolis/IN (US)

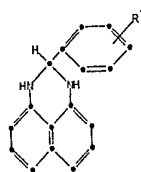
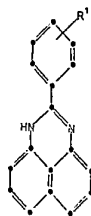
(24) Brevet délivré le: 30.06.1983

 (45) Fascicule du brevet
 publié le: 30.06.1983

 (74) Mandataire:
 E. Blum & Co., Zürich

(54) Dérivés de 2-aryl-1H-périmidine et composition thérapeutique les contenant.

(57) On décrit de nouveaux dérivés de 2-aryl-1H-périmidine de formule II ou III

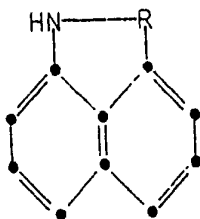


où R¹ est un groupement -CF₃, -OCF₃, SCF₃ ou -OC₂F₅
 en position méta ou para, et leurs sels pharmaceutique-
 ment acceptables.

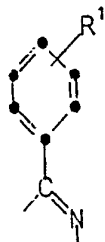
Ces composés sont des agents immunodépresseurs.

REVENDICATIONS

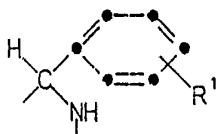
1. Composé thérapeutiquement actif de formule générale



dans laquelle R est un groupement de formule



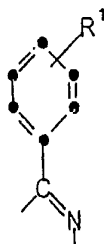
ou



où R¹ est un groupement —CF₃, —OCF₃, —SCF₃ ou —OC₂F₅ placé en position méta ou para,

et ses sels pharmaceutiquement acceptables.

2. Composé selon la revendication 1, où R est un groupement de formule



3. Composé selon la revendication 2 ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, qui est l'un des composés suivants:

2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

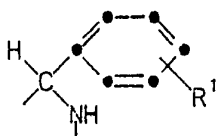
2-(m-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

2-(p-trifluorométhylthiophényl)-1H-périmidine

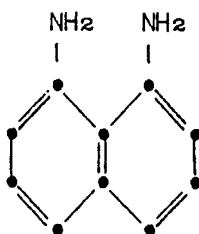
2-(p-pentafluoroéthoxyphényl)-1H-périmidine.

4. Composé selon la revendication 1, où R est



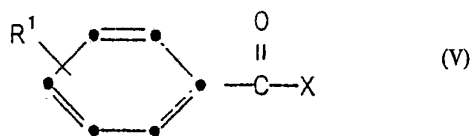
5. Composé selon la revendication 4 ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, qui est la 2,3-dihydro-2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine.

6. Procédé de préparation d'un composé selon la revendication 1, qui consiste à condenser le 1,8-diaminonaphtalène de formule



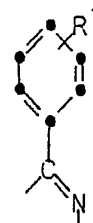
2

avec un dérivé acylé de formule



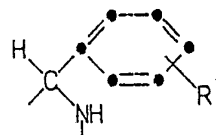
(I) dans laquelle R¹ est tel que défini précédemment, et X est un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'hydrogène.

7. Procédé selon la revendication 6 pour préparer un composé de formule I, dans laquelle R est



où X est un atome de fluor, de chlore ou de brome.

8. Procédé selon la revendication 6 pour préparer un composé de formule I où R est



où X est un atome d'hydrogène.

9. Composition pharmaceutique qui contient un support inerte et, comme ingrédient actif, un composé selon l'une des revendications 1 à 5.

35

Cette invention concerne de nouveaux dérivés de 2-aryl-1H-périmidine et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

La technique antérieure a décrit des dérivés de 1H-périmidine substitués en position 2 et des dérivés de 2,3-dihydro-1H-périmidine substitués en position 2, qui diffèrent des composés de la présente invention.

Un article paru dans «Proc. Am. Assn. Cancer Res.», 3, 319 (1962) décrit l'activité carcinostatique de la 2-(3,4-dichlorophényl)-1H-benzo-(de)-quinazoline, c'est-à-dire le même composé que la 2-(3,4-dichlorophényl)-1H-périmidine, dans le système de nomenclature utilisé dans le présent brevet. La référence indique expressément que le composé «n'est pas actif par voie orale».

Un article paru dans «J. Het. Chem.», 1, 108 (1964) est une étude ultérieure inspirée par l'article précédent. Dans cette étude ont été synthétisées une série de 2-aryl-2,3-dihydro-1H-périmidines. On trouve dans cette série:

la 2-(p-chlorophényl)-2,3-dihydro-1H-périmidine, la 2-(3,4-dichlorophényl)-2,3-dihydro-1H-périmidine, et la 2-(p-bromophényl)-2,3-dihydro-1H-périmidine.

La référence est muette quant à une quelconque utilité de ces composés.

Cependant, une étude d'utilité sur la série précédente a été décrite dans «J. Med. Chem.», 9, (4) 599 (1966). Les trois composés en question présentent une légère activité antinéoplasique.

L'article de «J. Org. Chem.», 36, N° 11, 1477 (1971) décrit, entre autres, des 1H-périmidines substituées en position 2 et leurs p-toluènesulfonates, comprenant la 2-phényl-1H-périmidine, la 2-(p-chlorophényl)-1H-périmidine et la 2-(p-méthylphényl)-1H-pyrimidine et leurs p-toluènesulfonates. Cette référence est muette quant à l'utilité. De même, l'article paru dans l'édition en anglais de

«Reakts. Spособnost' Org. Soedin.» 6 (1) 47-54 (1969) décrit la 2-phényl-1H-périmidine, la 2-(p-tolyl)-1H-périmidine, la 2-(p-bromophényl)-1H-périmidine et la 2-(m-bromophényl)-1H-périmidine, mais ne décrit aucune utilité.

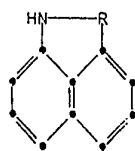
Les deux références suivantes concernent principalement un nouveau procédé de synthèse de périmidines 1,2-disubstituées.

Le brevet d'URSS N° 504770 concerne des périmidines «qui possèdent une activité biologique et pourraient trouver une application en médecine», mais il n'y a aucun renvoi à des références authentifiant cette observation, et il semblerait que le brevet concerne seulement des dérivés 1,2-disubstitués.

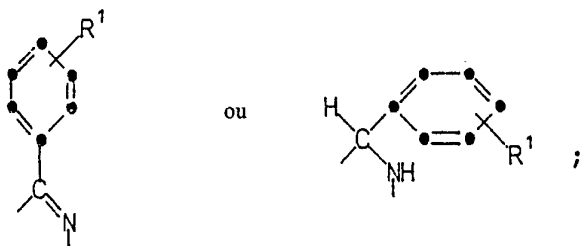
«Khim. Farm. Zhur.» 11 (5) 87-93 (1977) décrit l'activité sur le système nerveux central de périmidines 1,2-disubstituées et de la 2-(3,4-diméthoxyphényl)périmidine.

Les composés de la présente invention diffèrent des composés de ces références en ce qu'ils ne sont pas substitués en position 1 et en ce qu'ils portent d'autres substituants sur le cycle phényle. En outre, la présente invention concerne la suppression de la réaction immunologique chez les mammifères, utilité qui n'est pas suggérée par l'activité carcinostatique ou l'activité sur le système nerveux central.

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de 2-aryl-1H-périmidine de formule générale

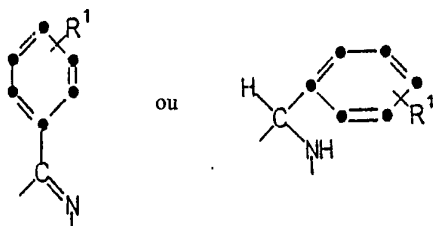


dans laquelle R est

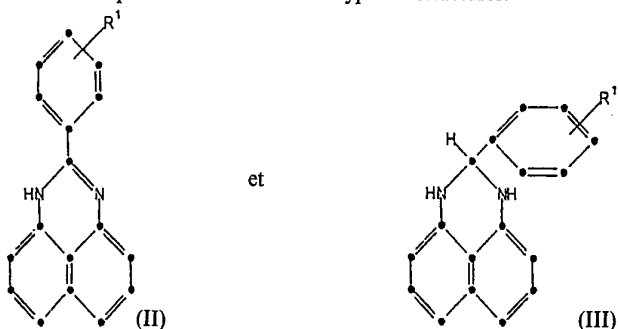


où R¹ est un groupement —CF₃, —OCF₃, —SCF₃ ou —OC₂F₅, placé en position méta ou para, et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

Dans la formule I, l'atome de carbone des groupements

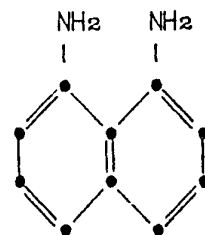


est toujours placé entre les deux atomes d'azote, de sorte que la formule I représente seulement deux types de structures.



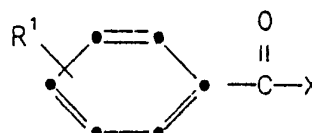
dans lesquelles R¹ est tel que défini précédemment.

On prépare tous les composés de formule I selon des modes opératoires, connus en soi qui comprennent la condensation du 1,8-diaminonaphtalène



(IV)

avec un dérivé acylé de formule



(V)

où R¹ est tel que défini précédemment et X est un atome de fluor de chlore, de brome ou d'hydrogène. On prépare les composés de formule II quand X est le fluor, le chlore ou le brome; on prépare les composés de formule III quand X est un atome d'hydrogène. On se référera à «J. Het. Chem.», 1, 108 (1964), «J. Org. Chem.», 36 (11) 1477 (1971) et aux références qui y sont citées.

La plupart des composés de formule V que l'on utilise comme substances de départ sont des composés connus et ils sont tous préparés par des modes opératoires classiques. On prépare les fluorures de m- et p-trifluorométhoxybenzoyle en chlorant un m- ou p-méthoxybenzoate d'alkyle et en faisant réagir le chlorure de m- ou p-trichlorométhoxybenzoyle résultant avec un mélange de SbF₃ et SbCl₅. On prépare les chlorures de m- et p-trifluorométhylthiobenzoyle en faisant réagir un m- ou p-iodobenzoate d'alkyle avec Hg(SCF₃)₂, en hydrolysant le m- ou p-trifluorométhylthiobenzoate d'alkyle résultant et en transformant l'acide libre en un chlorure d'acide avec SOCl₂ par exemple. On prépare les chlorures de m- et p-pentafluoroéthoxybenzoyle comme suit: on acyle le m- ou p-bromophénol avec l'anhydride trifluoroacétique pour obtenir le trifluoroacétate de m- ou p-bromophényle que l'on fait réagir avec SF₄ pour obtenir le bromure de m- ou p-pentafluoroéthoxyphényle. On le transforme en acide correspondant par réaction avec le butyllithium et CO₂, puis on le transforme en chlorure d'acyle avec SOCl₂. On prépare les aldéhydes correspondants, que l'on utilise dans la préparation des composés de formule III, à partir des halogénures d'acyle par des modes opératoires classiques.

Les composés de formule I sont utiles pour supprimer la réaction immunologique chez les mammifères. Cette suppression comprend la suppression de la réaction immunologique engendrée quand l'organisme du mammifère forme des anticorps et des cellules réactives en réaction à la présence d'une protéine étrangère. L'application pratique de l'activité immunodépressive est variée. Une application principale de l'activité immunodépressive se trouve dans la greffe d'organes; mais l'activité immunodépressive peut également être utilisée avantageusement dans le traitement de diverses maladies appelées collectivement maladies auto-immunes. Des exemples des maladies auto-immunes comprennent l'anémie hémolytique auto-immune, le purpura thrombocytopénique idiopathique, le lupus érythémateux, l'hépatite chronique lupique, la néphrite lupique, la glomérulonéphrite, le syndrome néphrotique, le syndrome de Goodpasture, la granulomatose de Wegener, la sclérodermie, la maladie de Sezary, le psoriasis, l'uvéite, l'arthrite rhumatoïde, la rectocolite ulcérohémorragique, la thyroïdite et l'orchite ourlienne.

L'administration des composés de formule I peut se faire par voie orale ou par voie parentérale. La quantité précise d'agents actifs à utiliser varie de composé à composé. Cependant, les composés ont un indice thérapeutique élevé de sorte que les doses non toxiques efficaces dans chaque cas s'étendent sur un large intervalle.

Selon le système d'essai, cet intervalle, pour les composés les plus actifs de la série essayée chez les petits mammifères, va de moins de 1,6 à 25 mg/kg/d. D'autres composés de la série nécessitent davantage, comme jusqu'à 100 mg/kg/d ou plus, chez les petits mammifères. Etant donné la relation entre les doses pour les petits et les gros animaux que l'on rencontre avec d'autres médicaments, par exemple la dose humaine de l'immunodépresseur, l'azathioprine, est généralement de 1 à 2 mg/kg, alors que la dose chez la souris est d'environ 50 mg/kg (voir également «Cancer Chemotherapy Reports», 50: 219; 1966), les taux de doses efficaces prévus chez l'homme seront, de façon correspondante, plus faibles que chez les petits mammifères, comme de 0,5 à 10 mg/kg/d.

Les composés de formule I sont de préférence administrés sous la forme d'une composition pharmaceutique. Les compositions pharmaceutiques sont bien connues dans le domaine. Pour préparer une composition avec l'agent actif de formule I de la présente invention, on mélange le composé choisi avec un support comme le lactose, le dextrose, le saccharose, le sorbitol, le mannitol, les amidons, la gomme arabique, le phosphate de calcium, les alginates, la gomme adragante, la gélatine, la méthylcellulose, le talc, le stéarate de magnésium ou l'huile minérale. La composition peut être préparée sous forme de comprimés, de suspensions ou de capsules. Pour l'utilisation parentérale, on prépare les composés sous forme de solutions injectables.

Une composition préférée est une composition sous forme unitaire posologique prévue pour l'administration orale pour obtenir un effet immunodépresseur, qui comprend, par unité posologique, une quantité non toxique immunodépresseive, comprise entre environ 10 et environ 1000 mg du présent agent actif, et un diluant pharmaceutique.

Les exemples suivants illustrent la présente invention.

Exemple 1: Préparation du chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

On ajoute simultanément une solution de 31,64 g (0,20 mol) de 1,8-diaminonaphtalène dans 500 ml de benzène, et une solution de 20,8 g (0,20 mol) de chlorure de p-trifluorométhylbenzoyl dans 500 ml de benzène, à 500 ml de benzène en ajoutant vigoureusement à la température ambiante. Après environ ½ h d'agitation, on recueille le solide et on le triture avec du méthanol, ce qui donne 24,6 g du chlorhydrate (rendement de 35%), pf 210°C avec décomposition, spectre de masse m/e 312.

Analyse pour $C_{18}H_{12}N_2ClF_3$:

Calculé: C 61,99 H 3,47 N 8,03 Cl 10,17 F 16,34%
 Trouvé: C 61,75 H 3,59 N 8,02 Cl 10,45 F 16,70%

Exemple 2: Préparation du chlorhydrate de 2-(m-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

On fait réagir 15,82 g (0,10 mol) de 1,8-diaminonaphtalène et 20,8 g (0,10 mol) de chlorure de m-trifluorométhylbenzoyl, selon le même mode opératoire que dans l'exemple 1, ce qui donne 33,3 g (rendement de 95,4%) de chlorhydrate de 2-(m-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine, pf 280°C avec décomposition, spectre de masse m/e 312.

Analyse pour $C_{18}H_{12}N_2ClF_3$:

Calculé: C 61,99 H 3,47 N 8,03%
 Trouvé: C 61,68 H 3,59 N 8,13%

Exemple 3: Préparation du fluorhydrate de 2-(p-trifluorométhoxyphényl)-1H-périmidine

On dissout 1,52 g (0,0096 mol) de 1,8-diaminonaphtalène dans 25 ml de toluène, puis on décante. On dissout dans 25 ml de toluène 2,0 g (0,0096 mol) de fluorure de p-trifluorométhoxybenzoyl. On ajoute les deux solutions simultanément à 25 ml de toluène. Après avoir agité le mélange réactionnel pendant environ 4 h, une CCM indique que la réaction est terminée.

On filtre le mélange réactionnel et on sèche le produit, un solide jaune, 2,72 g (rendement de 81,4%), pf 195°C avec décomposition, spectre de masse m/e 328 avec un pic plus petit à 361, indiquant des traces de $-OCFCl_2$.

Analyse pour $C_{18}H_{12}F_4N_2O$:

Calculé: C 62,07 H 3,47 N 8,04 F 21,82%
 Trouvé: C 61,81 H 3,58 N 8,13 F 21,59%

Exemple 4: Préparation du chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylthiophényl)-1H-périmidine

On fait réagir 14,59 g (0,092 mol) de 1,8-diaminonaphtalène et 22,2 g (0,092 mol) de chlorure de p-trifluorométhylthiobenzoyl selon le mode opératoire de l'exemple 3, ce qui donne 31,86 g de produit (rendement de 91,0%), pf 276°C avec décomposition, spectre de masse m/e 344. On met le produit en suspension dans 500 ml de toluène et on agite pendant environ 2 h, puis on le sépare par filtration, 30,6 g (rendement de 87,4%), pf 270°C avec décomposition. On le remet à nouveau en suspension dans 750 ml de toluène, on porte à ébullition pendant 2 h et on sépare par filtration, 29,7 g (rendement de 84,8%).

Analyse pour $C_{18}H_{12}ClF_3N_2S$:

Calculé: C 56,77 H 3,18 N 7,36%
 Trouvé: C 56,57 H 3,37 N 7,40%

Exemple 5: Préparation du chlorhydrate de 2-(p-pentafluoroéthoxyphényl)-1H-périmidine

On fait réagir 1,04 g (0,00656 mol) de 1,8-diaminonaphtalène et 1,8 g (0,00656 mol) de chlorure de p-pentafluoroéthoxybenzoyl selon le mode opératoire de l'exemple 3, ce qui donne 2,25 g de produit (rendement de 82,7%), pf 240°C avec décomposition, spectre de masse m/e 378.

Analyse pour $C_{19}H_{12}ClF_5N_2O$:

Calculé: C 55,02 H 2,92 N 6,75 F 22,90%
 Trouvé: C 54,82 H 3,15 N 6,49 F 23,20%

Exemple 6: Préparation de la 2,3-dihydro-2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine

On chauffe à reflux pendant 24 h une solution contenant 15,8 g (0,10 mol) de 1,8-diaminonaphtalène, 17,4 g (0,10 mol) de p-trifluorométhylbenzaldéhyde et 1 l de xylène. On évapore le solvant sous vide et l'on obtient 37,5 g du produit brut, que l'on purifie sur gel de silice en éluant avec du toluène, ce qui donne 22,93 g (rendement de 73%) de produit, pf 119-122°C, spectre de masse m/e 314.

Analyse pour $C_{18}H_{13}N_2F_3$:

Calculé: C 68,78 H 4,17 N 8,91%
 Trouvé: C 68,69 H 4,40 N 9,11%

Exemples 7-20: Essai sur l'hémagglutinine de la souris, administration par voie orale

Des groupes de 5 souris Swiss de portées différentes, mâles, pesant 20 g, reçoivent des injections intraveineuses de 5×10^7 globules rouges de mouton. Les globules pour ces injections sont préparés à partir de sang d'agneau (recueilli dans la solution d'Alsever) en lavant trois fois avec la solution saline à 0,85% et en remettant en suspension dans la solution saline à 0,85%. On administre par voie orale à des doses de 0,1 ml 9 doses quotidiennes de chaque composé à tester, solubilisé dans du polyéthylène glycol 400, en commençant 3 d avant l'injection des globules rouges. On utilise plusieurs niveaux de doses de chaque composé, en les doublant. Un groupe témoin de souris recevant une injection de globules rouges et 9 doses quotidiennes de véhicule au lieu du médicament est inclus. 6 d après les injections d'antigène, on saigne les souris par ponction cardiaque, et on réunit les sérums de chaque groupe de 5 souris. Les sérums réunis, après inactivation complète, sont analysés pour déterminer la teneur

en hémagglutinine par des modes opératoires classiques, utilisant un mélange de doubles dilutions salines en série des sérums d'essai avec des suspensions à 0,5% de globules rouges de mouton dans des plaques à touches en matière plastique. Après incubation des plaques pendant 3 d à 37°C, on évalue les diagrammes d'hémagglutination. On considère comme significative une réduction des anticorps de 4 fois (75%) ou plus (dans le sérum d'essai par rapport au sérum témoin). Les résultats sont exprimés comme la dose efficace minimale (DEM), c'est-à-dire la dose de médicament la plus faible, produisant une réduction des anticorps de 75% ou plus.

Les résultats des essais des dérivés de périmidine de formule I en vue de déterminer leur aptitude à réduire la production d'anticorps sont résumés dans le tableau I. L'azothioprine (Imuran), qui est utilisée pour l'immunodépression clinique, a une DEM de 100 mg/kg × 9 dans cet essai.

Tableau I

| Composé | DEM (mg/kg × 9 PO) |
|---|-----------------------|
| Chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine | 6,25 |
| Chlorhydrate de 2-(m-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine | 100 |
| Fluorhydrate de 2-(p-trifluorométhoxyphényl)-1H-périmidine | < 100 |
| Chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylthiophényl)-1H-périmidine | < 100 |
| Chlorhydrate de 2-(p-pentafluorométhoxyphényl)-1H-périmidine | 100 |

Exemples 21-25: Mode opératoire d'analyse sur les sérums individuels

Dans ces essais, on modifie le mode opératoire décrit précédemment pour les exemples 7 à 20 en utilisant des groupes de 10 souris à la place des groupes de 5 souris. On saigne les souris comme précédemment, mais on titre les sérums individuellement au lieu de les titrer sous forme combinée. On calcule les valeurs d'hémagglutinine moyennes ($\log_2 \pm$ E.T. (erreur type) pour chaque groupe de 10 souris et on détermine les valeurs p (par l'essai t de Student) en comparant au groupe témoin. La dose de médicament la plus faible abaissant de façon significative ($p < 0,05$) le titre en anticorps définit le point final. On administre les médicaments par voie orale ou sous-cutanée en 10 doses quotidiennes, en commençant 3 d avant l'injection de globules rouges. Les médicaments sont en suspension dans un véhicule composé d'une solution saline contenant 0,125% de méthylcellulose et 0,2% d'un agent émulsifiant non ionique. On fait les déterminations des anticorps (hémagglutinine) 7 d après l'injection des globules rouges. Les résultats types obtenus dans l'essai d'analyse des sérums individuels avec des composés représentatifs de formule I sont résumés dans le tableau II.

(Tableau en tête de la colonne suivante)

Exemples 26-27: Réaction de la greffe vis-à-vis de l'hôte (G/H)

Dans cet essai, on injecte des cellules de rate de souris parentales (C57BL) à des souris d'une souche hybride F1 (C57BL × C3H). Les souris réceptrices ne rejettent pas les cellules de rate injectées, car l'hybride reconnaît les antigènes apparentés à C57BL de son parent homozygote comme étant les siens. Les cellules injectées réagissent cependant au tissu de la souris réceptrice en raison des antigènes dérivés de C3H étrangers. Par suite, la rate de la souris réceptrice s'agrandit. Une immunodépression empêche ou réduit cet agrandissement. Ainsi, les poids des rates fournissent une mesure de la réaction G/H et de sa réduction sous immunodépression.

On utilise une modification du mode opératoire initial de Simonen («Ann. N.Y. Acad. Sci.», 73: 834, 1958). On obtient des récoltes

Tableau II

Activité immunodépressive des composés
(Analyse individuelle des sérums)

| Composé | Route | Dose au point final ($p < 0,05$) (mg/kg × 10) |
|---|-------|--|
| Chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine | orale | < 1,6 |
| Fluorhydrate de 2-(p-trifluorométhoxyphényl)-1H-périmidine | s.c. | < 1,6 |
| Chlorhydrate de 2-(p-trifluorométhylthiophényl)-1H-périmidine | orale | 12,5 |
| | orale | 50 |

importantes de cellules de rate, sans la dilacération manuelle des rates généralement utilisée, en utilisant des mélangeurs Waring en inversant les lames de coupe. Deux périodes de malaxage de 6 s déchiquettent les rates (lot de 25 rates C57BL dans 25 ml de solution saline) suffisamment pour libérer les cellules du tissu conjonctif. On enlève ce dernier par filtration sur plusieurs épaisseurs de gaze. On normalise des suspensions de cellules préparées de cette façon, à l'aide des chambres de comptage Levy-Hausser, pour qu'elles contiennent 6×10^8 cellules nucléées par millilitre. On injecte par voie intrapéritonéale 1 ml de la solution de cellules de donneur à des groupes de 10 souris C57BL × C3H de 16 à 18 g. On commence le traitement par voie orale ou sous-cutanée dans 0,2 ml 3 d avant l'injection des cellules, et on le continue quotidiennement pendant 13 d. Les animaux témoins reçoivent seulement les cellules et le véhicule. On enlève les rates et on les pèse 10 d après l'injection des cellules. Les résultats sont exprimés en milligrammes de rate par gramme de poids corporel.

Comme l'injection des cellules syngénétiques, c'est-à-dire C57BL/ × C3H, entraîne un degré mineur de splénomégalie, on utilise les poids de rate de ces animaux pour définir une dépression de 100% du composant G/H en calculant les pourcentages d'inhibition produits par les composés immunodépresseurs. Le procédé de calcul est illustré dans l'exemple suivant pour des souris traitées avec un composé immunodépresseur de référence.

| Traitement par le composé de référence | mg de rate/ g de poids corporel ± E.T.* | % d'inhibition** |
|---|--|------------------|
| 1-(6-Méthoxy-2-benzothiazolyl)-3-phénylurée (cf. «J. Med. Chem.», 12, 1016-1018 (1969), 12,5 mg/kg × 13 (orale) | $6,86 \pm 0,80^{***}$ | 74 |
| Aucun (témoin G/H) | $11,55 \pm 1,01$ | 0 |
| Aucun (témoin syngénétique) | $5,20 \pm 0,37$ | 100 |
| Aucun (témoin normal) | $4,16 \pm 0,17$ | — |

* Valeurs moyennes provenant de groupes de 5 souris.

(Témoin G/H — traité)

** $\frac{\text{Témoin G/H} - \text{témoin syngénétique}}{\text{Témoin G/H}} \times 100 = \% \text{ d'inhibition.}$

*** $p < 0,01$, par rapport au témoin G/H.

Comme on a trouvé en pratique que les deux témoins, syngénétique et normal, ne varient que très légèrement d'essai à essai, on utilise dans les calculs une valeur composite (4,8) obtenue en recalculant 4 groupes de témoins syngénétiques séparés ($5,20 \pm 0,37$,

4,99 ± 0,39, 4,42 ± 0,13, 4,66 ± 0,12) en tant que groupe de 20 souris. Les résultats obtenus dans la réaction greffe vis-à-vis de l'hôte avec des composés de formule I sont résumés dans le tableau III.

Tableau III
Effet des composés sur la réaction G/H

| Composé | (Dose mg/ kg × 13) | mg de rate/ g de poids corporel (moyenne ± E.T.) | % d'inhi- bition ^a série G/H |
|---|--------------------------|---|---|
| Chlorhydrate de 2- (p-trifluoro- méthylphényl)- 1H-périmidine (orale) | 25 | 4,75 ± 0,42 ^b | 101 |
| | 12,5 | 6,62 ± 1,17 | 53 |
| | 6,2 | 5,67 ± 0,51 ^c | 77 |
| | 3,1 | 4,96 ± 0,31 ^d | 96 |
| | 1,6 | 5,66 ± 0,33 ^e | 78 |
| — (Témoin) | — | 8,64 ± 1,10 | — |

^a $\frac{(\text{Témoin G/H} - \text{traité})}{(\text{Témoin G/H} - \text{témoin syngénétique})} \times 100 = \% \text{ d'inhibition.}$

^b p < 0,001.

^c p < 0,005.

^d p < 0,01.

^e p < 0,05.

Exemple 28: Essai sur l'arthrite induite par un adjuvant chez les rats

On détermine l'aptitude du chlorhydrate de la 2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine à modifier le gonflement des pattes

arrière et les dégâts sur les os résultant des œdèmes induits par des adjuvants chez les rats. Pour quantifier l'inhibition du gonflement des pattes arrière résultant de l'arthrite induite par un adjuvant, on a défini deux phases d'inflammation: 1) l'inflammation primaire et secondaire de la patte arrière ayant reçu l'injection, et 2) l'inflammation secondaire de la patte arrière n'ayant pas reçu l'injection qui commence généralement à se développer environ 9 d après le début de l'inflammation de la patte ayant subi l'injection. La réduction de ce dernier type d'inflammation est une indication de l'activité immunodépressive, cf. Chang, «Arth. Rheum.», 20: 1135-1141 (1977). Du fénoprophène (30 mg/kg) est inclus comme composé anti-inflammatoire de référence pour une évaluation comparative (Nickander *et al.*, «Fed. Proc. Annual FASEB Mtgs.», avril 1971, ABS N° 205).

On induit l'arthrite par un adjuvant chez des rats mâles Lewis-Wistar (200-210 g) par une seule injection sous-plantaire dans la patte arrière droite de 0,1 ml d'une suspension à 0,5% de *Mycobacterium tuberculosis* lyophilisé et tué par la chaleur (Calbiochem-Perrigen-C) dans de l'huile minérale (modification du procédé décrit par Winter *et al.*, «Arth. Rheum.», 9: 394-397 (1966). Un groupe de 5 rats (témoin TB) reçoit seulement ce traitement. Un autre groupe de 5 rats ne reçoit pas de traitement (témoin normal). Chaque composé à tester est mis en suspension dans de la carboxyméthylcellulose (1%) et administré par gavage aux rats (groupe de 5 rats chacun) par dose orale quotidienne de 30 mg/kg, en commençant au jour 1 et en continuant jusqu'au 17^e jour après l'injection de l'adjuvant (17 doses). On mesure les volumes des pattes par déplacement du mercure en utilisant un transducteur de pression Statham et un voltmètre numérique. On mesure les volumes des pattes arrière ayant subi l'injection et n'ayant pas subi l'injection aux jours 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16 et 18. On prend des photos aux rayons X le 18^e jour, après avoir sacrifié les animaux. Les mesures des volumes des pattes sur la patte n'ayant pas subi d'injection, en commençant au jour 9 et en allant jusqu'au jour 18, sont indiquées au tableau IV.

Tableau IV
Mesures du volume de la patte n'ayant pas subi d'injection du jour 9 au jour 18

| Traitement | Jour 9 | Jour 11 | Jour 14 | Jour 16 | Jour 18 |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------------------------|
| — (Témoin) | 1,99 ± 0,063 | 2,13 ± 0,08 | 2,08 ± 0,053 | 2,15 ± 0,056 | 2,01 ± 0,95 |
| Témoin TB | 1,94 ± 0,028 | 2,02 ± 0,037 | 2,69 ± 0,106 | 3,26 ± 0,202 | 3,65 ± 0,227 |
| Fénoprophène | 1,97 ± 0,023 | 2,11 ± 0,07 | 2,38 ± 0,099 | 2,7 ± 0,107 | 2,67 ± 0,128 (23% d'inhibition)* |
| 2-(p-Trifluorométhyl- phényl)-1H-périmidine | 1,93 ± 0,081 | 1,95 ± 0,079 | 2,13 ± 0,148 | 2,35 ± 0,223 | 2,53 ± 0,39 (69% d'inhibition)* |

* % d'inhibition = $1 - \frac{\text{volume de la patte (rat traité)} - \text{volume de la patte (témoin normal)}}{\text{volume de la patte (témoin TB)} - \text{volume de la patte (témoin normal)}} \times 100.$

L'observation macroscopique des photos prises aux rayons X sur les pattes ayant subi l'injection et n'ayant pas subi l'injection indique qu'il n'y a pas de dégâts sur les os des animaux traités par le chlor-

hydrate de 2-(p-trifluorométhylphényl)-1H-périmidine alors que l'on observe très nettement des dommages sur les os dans le groupe témoin TB.