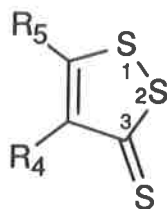


Mécanisme d'action d'une drogue antibilharzienne développée par Rhône-Poulenc Santé : 35972 RP, Oltipraz *

M.B. Fleury

Deuxième endémie parasitaire après le paludisme, la bilharziose touche actuellement 400 millions d'individus. Elle est provoquée par des trématodes à sexes séparés : les schistosomes. Les vers adultes vivent accouplés dans les veines mésentériques. Les œufs sont pondus dans les veinules, gagnent les capillaires d'où ils sortent en érodant l'endothélium. Ils cheminent dans les tissus d'où ils peuvent déboucher dans la lumière des organes creux : vessie pour *Schistosoma hoematobium*, intestin pour *Schistosoma mansoni* ou *Schistosoma japonicum*. Dans les eaux tièdes, les œufs libèrent le miracidium qui pénètre dans un gastéropode vecteur. Ils se transforment en furcocercaires dans l'hétopancréas du mollusque. Les furcocercaires pénètrent dans l'hôte définitif par voie transcutanée au niveau des parties immergées du corps. Les schistosomes sont entraînés par le sang vers le cœur droit, la circulation pulmonaire, le cœur gauche et la circulation générale. Ils arrivent dans le système porte par les veines mésentériques. La longévité des adultes est considérable : une trentaine d'années.

Notre travail a consisté à tenter d'établir le mécanisme d'action d'une drogue développée par Rhône-Poulenc Santé : l'Oltipraz, 35972 RP [1]. Il s'agit de la méthyl-4(pyrazinyl-2)-5-dithiole-1,2-thione-3.



R⁴ = CH₃

R⁵ = pyrazinyl-2

C'est une drogue schistosomicide à action lente : plus d'un mois est nécessaire pour qu'un homme soit débarrassé de ses parasites [2].

Seront présentés successivement :

- I. les données métaboliques établies antérieurement ;
- II. la détermination du mécanisme de la métabolisation par voie chimique ;
- III. la préparation par voie électrochimique de métabolites disulfures intermédiaires, ainsi que la mesure du t_{1/2} de radicaux thiyle ;
- IV. la mesure de l'activité schistosomicide de ces disulfures ;
- V. une discussion sur le mécanisme d'action de l'Oltipraz.

I. Données métaboliques

Des études pharmacocinétiques et pharmacologiques ont été réalisées par Rhône-Poulenc Santé. Les principaux métabolites de l'Oltipraz sont représentés dans le *tableau I*. Ils ont été caractérisés dans l'urine de souris et d'homme [3].

A l'issue de 24 heures, l'Oltipraz ne représente plus qu'une faible proportion des produits radioactifs présents dans le sang de l'hôte parasité : 17 % chez la souris, moins de 1 % chez le singe, tandis que chez le parasite, le schistosome, toujours 24 heures après l'administration, les métabolites représentent respectivement 84 % chez le mâle, et 31 % chez la femelle, de la concentration initiale d'Oltipraz. La concentration totale en Oltipraz et métabolites, exprimée en équivalent Oltipraz, est alors de [4] : 100 µg par g de ver, soit 0,4 mM chez le mâle ; 375 µg par g de ver, soit 1,5 mM chez la femelle.

On en déduit que la pénétration de l'Oltipraz est plus aisée chez la femelle que chez le mâle. Il a été montré, d'autre part, que l'administration de la drogue entraîne une décroissance du taux de glutathion (GSH) chez le ver [5]. La concentration de GSH chez le ver non traité est de 2,4 mM. L'administration à l'hôte parasité d'Oltipraz (250 mg.kg⁻¹) entraîne chez le ver trois effets successifs :

- 1) une première décroissance du taux de GSH qui, à l'issue de 24 heures, devient égal aux deux tiers du taux initial ;
- 2) une migration progressive des vers des veines mésentériques vers les veines hépatiques ; la migration est amorcée au dixième jour suivant l'administration ; elle est terminée au quinzième jour ;
- 3) une seconde diminution du taux de GSH dès le dixième jour, d'amplitude égale à la première. Quand elle est achevée, vers le quinzième jour, les vers sont morts.

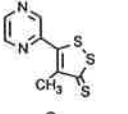
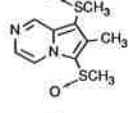
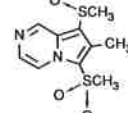
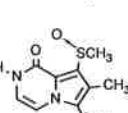
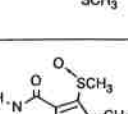
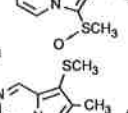
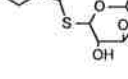
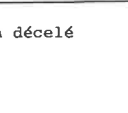
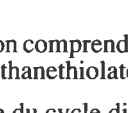
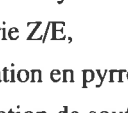
II. Mécanisme de la métabolisation

Le processus chimique a été établi au laboratoire grâce à l'action de nucléophiles divers, notamment les thiolates RS⁻ [6, 7, 8].

Laboratoire de chimie analytique, URA CNRS 1310, Faculté de pharmacie, 4, avenue de l'Observatoire, 75270 Paris Cedex 06.

* Séminaire de la division "Chimie analytique" de la Société Française de Chimie, 23 janvier 1990.

TABLEAU I. - Distribution de la radioactivité ($t = 24$ heures) après administration d'Oltipraz à la dose de 250 mg. kg^{-1} .

métabolites de l'Oltipraz	Pourcentages		
	urine de souris	schistosomes femelles	schistosomes mâles
 solubles dans les solvants aprotiques	< 1	70	16
  solubles dans l'eau	36	nd	5
 	16	4	24
 	9	nd	24
 solubles dans l'eau	6	nd	nd
 	32	27	30

nd: non décelé

La réaction comprend quatre étapes schématisées figure 1 dans le cas de l'éthanethiolate comme nucléophile :

- 1) attaque du cycle dithiole-thione en position 2,
- 2) isomérisation Z/E,
- 3) cyclisation en pyrrolo [1,2-a]pyrazine,
- 4) élimination de soufre moléculaire.

Après méthylation, deux cas sont à considérer selon le nombre d'équivalents EtS^- utilisés : en quantité stoechiométrique, on obtient le disulfure dissymétrique Ar-S-S-Et (ce qui démontre que l'étape (1) concerne bien l'atome S_2) ; en excès, on isole le métabolite central [6].

III. Réduction électrochimique

Nous avons cherché à reproduire les résultats précédents en utilisant une électrode comme donneur d'électrons au lieu d'un nucléophile. Une étude voltammétrique en solvant non aqueux (DMF, ACN) a permis de ranger les dithiole-1,2-thione-3 en deux catégories :

- 1) celles qui échangent 1 électron de façon réversible (fig. 2 et tableau II),

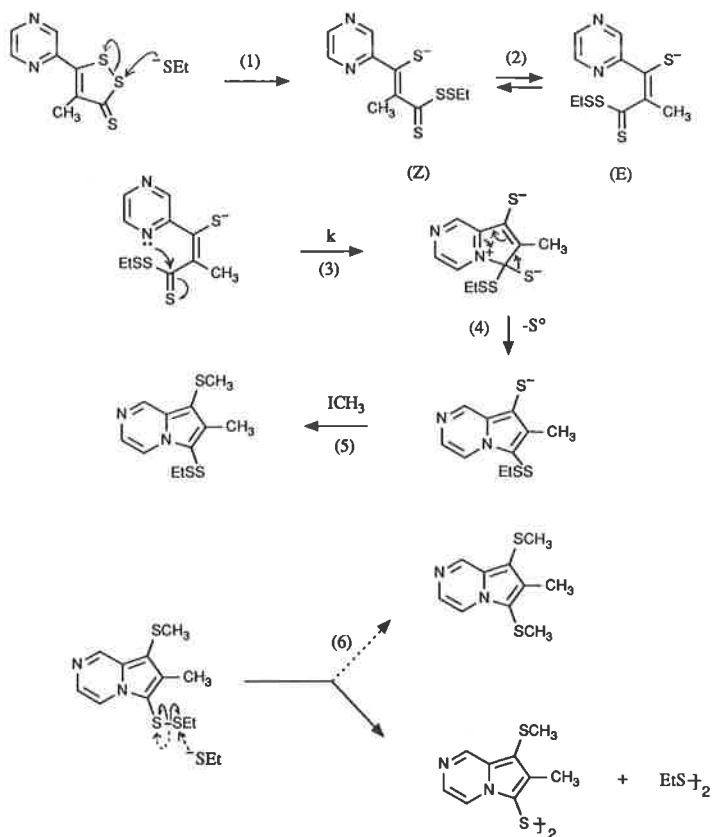
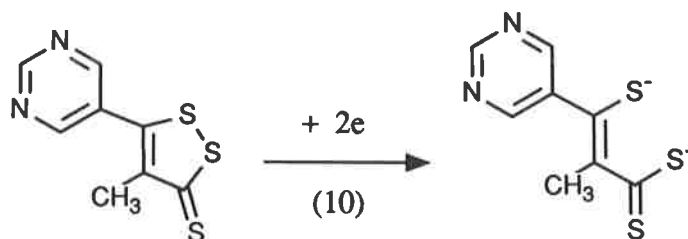


FIGURE 1. - Mécanisme de formation des métabolites pyrrolo-pyrazine à la suite de la réaction avec l'éthanethiolate.

TABLEAU II. - Valeurs de E° , dans le diméthylformamide (DMF), à une électrode de platine, correspondant à l'étape (7). $c = 1 \text{ mM}$; électrolyte support : tétraéthylammonium tétrafluoroborate (TEATFB) $0,1 \text{ M}$.

Composés RP	R^4	R^5	$E^\circ \text{ mV c.c.s.}$
Oltipraz	CH_3	pyrazinyl-2	-910
36598 RP	CH_3	pyridyl-2	-1070
35911 RP	$\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$	pyridyl-2	-880

- 2) celles dont le radical anion se dismute instantanément et qui échangent deux électrons de façon irréversible (tableau III) :



La relative stabilité des radicaux thiyle donnés par les composés appartenant à la catégorie 1) est confirmée par électrolyse à potentiel contrôlé. Si l'électrolyse est effectuée à un potentiel proche du pic cathodique, le produit majoritaire isolé est le sulfure symétrique [9], dimère du radical thiyle. Comme produits secondaires

TABLEAU III. - Valeurs de E_{pc} , dans le DMF, à une électrode de platine, correspondant à la réaction (10), vitesse de balayage : $0,5 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$; $c = 1 \text{ mM}$; électrolyte support : TEATFB $0,1 \text{ M}$.

Composés RP	R ⁴	R ⁵	E_{pc} mV e.c.s.
37069 RP	CH ₃	pyrimidinyl-5	-1040
36398 RP	CO ₂ C ₂ H ₅	pyridyl-4	-940
37528 RP	CH ₃	phényl	-1200

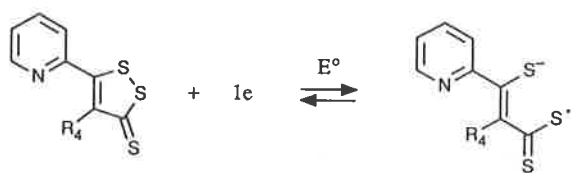
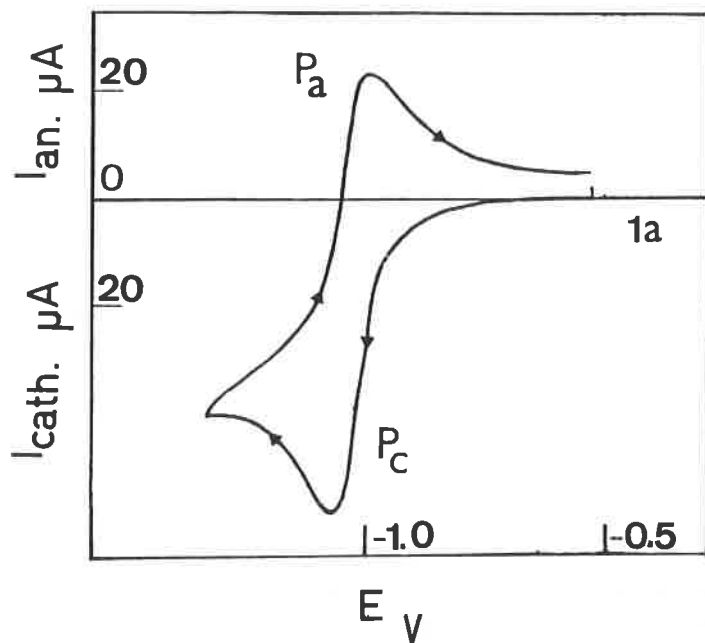


FIGURE 2. - Voltammogramme donné par les analogues pyridinés de l'Oltipraz, à une électrode de platine, dans le diméthylformamide ; $c = 1 \text{ mM}$; électrolyte support : TEATFB $0,1 \text{ M}$; vitesse de balayage : $0,1$ à $20 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$.

daïres, on isole également [10] :

- des disulfures dissymétriques analogues à ceux obtenus par action de EtS^- ;

- des trisulfures (fig. 3).

Au total, les principaux résultats fournis par cette étude électrochimique peuvent être résumés ainsi :

a) le métabolite central de l'Oltipraz est constitué d'un noyau pyrrolo[1,2-a]pyrazine correspondant à un état de réduction par 4 électrons,

b) par électrolyse à potentiel contrôlé, on isole comme produits majoritaires des disulfures symétriques qui sont des produits de réduction par 3 électrons : 1 électron provient de l'électrode et 2 électrons ont une origine chimique : ils sont fournis lors de l'élimination du soufre moléculaire consécutive à la cyclisation,

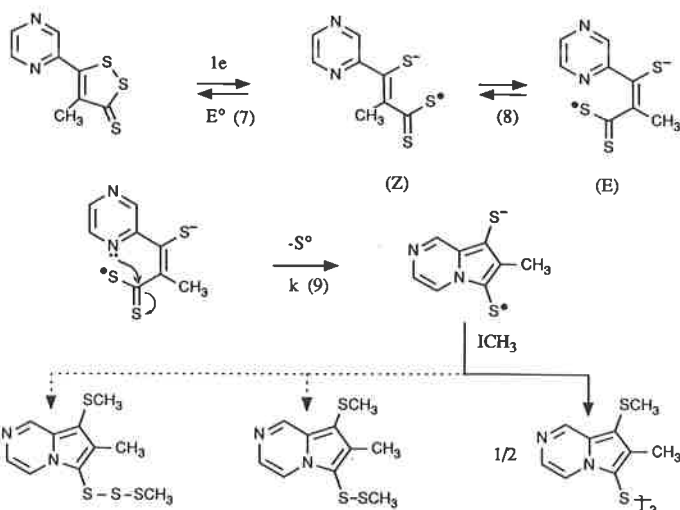


FIGURE 3. - Mécanisme de formation des métabolites pyrrolo-pyrazine par réduction électrochimique.

c) dans les solvants non aqueux (ACN, DMF), l'Oltipraz est réductible par 1 électron de façon réversible. Les valeurs $t_{1/2}$ du radical thiole sont mesurables par les techniques classiques : voltammétrie cyclique (Nicholson et Shain), chronoampérométrie à double saut de potentiel (Schwarz et Shain) (tableau IV).

La constante de vitesse de cyclisation la plus élevée est trouvée avec le 35911 RP : l'effet attracteur du groupement $\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ facilite la cyclisation. Elle est plus élevée dans le cas du 36598 RP que dans celui de l'Oltipraz, conformément à la basicité de l'atome d'azote impliqué dans la cyclisation : pK_a (pyridine) = $5,2 > \text{pK}_a$ (pyrazine) = $0,6$.

Ainsi, il est possible d'isoler des disulfures dissymétriques, par action des nucléophiles RS^- , symétriques, par réduction électrochimique. L'activité antischistosomique de ces composés a été testée *in vitro*, sur des schistosomes en survie, ainsi qu'*in vivo*.

TABLEAU IV. - Mesure du $t_{1/2}$ du radical anion thiole engagé dans l'étape de cyclisation (9). (a) par voltammétrie cyclique ; (b) par chronoampérométrie à double saut de potentiel.

Composés RP	R ⁴	R ⁵	k (s^{-1}) à 25°C	$t_{1/2}$ (s)
Oltipraz	CH ₃	pyrazinyl-2	$0,10 \pm 0,02$ (b)	7,0
36598 RP	CH ₃	pyridyl-2	$0,50 \pm 0,10$ (b)	1,4
35911 RP	CO ₂ C ₂ H ₅	pyridyl-2	50 ± 10 (a)	0,014
37069 RP	CH ₃	pyrimidinyl-5	—	0

IV. Activité schistosomicide des disulfures isolés

IV.1 - Essais *in vitro* (ex vivo)

Chaque test est effectué sur quatre couples de schistosomes maintenus en survie dans un milieu tyrode + sérum de veau. En l'absence de substance à tester, les vers peuvent survivre pendant une dizaine de jours. Après addition de disulfure, les concentra-

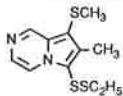
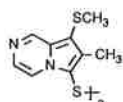
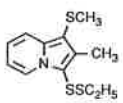
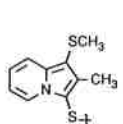
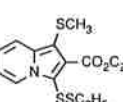
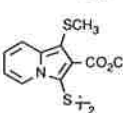
tions variant de 3 à 100 µg/ml, on évalue la mobilité des vers à l'issue de 72 heures. Les schistosomes immobiles sont considérés comme morts. Les activités sont référencées à celle de l'*Oltipraz*. Le composé 35911 RP ($R^4 = CO_2C_2H_5$; $R^5 = \text{pyridyl-2}$) est dix fois moins actif; le composé 36598 RP ($R^4 = CH_3$; $R^5 = \text{pyridyl-2}$) est inactif (tableau V).

Le disulfure dissymétrique de l'*Oltipraz* est trois fois moins actif; le disulfure du 35911 RP est également deux fois moins actif, c'est-à-dire qu'il est cinq fois plus actif que la dithiole-1,2-thione-3 dont il est issu; le disulfure du 36598 RP est inactif.

En revanche, il convient de souligner le fait que ces disulfures sont totalement inactifs *in vivo* quand ils sont administrés *per os* à la souris.

En possession de ces premiers résultats, sachant que l'activité schistosomicide est corrélée à une diminution du taux de GSH chez le schistosome, nous avons entrepris d'étudier l'activité des disulfures sur les enzymes susceptibles d'être impliquées dans un effet d'inhibition d'enzyme.

TABLEAU V. - Activités schistosomicide et inhibitrice de la GSSG réductase des disulfures dissymétriques et symétriques préparés.

composés	inhibition de l'activité de la GSSG réductase (%)		activité schistosomicide in vitro
	levure	Schistosoma Mansoni	
Oltipraz	0	0	1
	40	50	0,3
	60	100	0,3
36598 RP	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
35911 RP	0	0	0,1
	50	50	0,5
	60	50	0,1

IV.2 - Essais enzymatiques

Dans un premier temps, nous avons montré que le schistosome possède, dans son équipement enzymatique, la *Lγ glutamyl-cystéine synthétase* et la *glutathion synthétase* [11]. Dans un deuxième

temps, nous avons établi que ni l'*Oltipraz*, ni ses métabolites, n'inhibaient ces deux enzymes. Ainsi pouvons nous conclure que l'*Oltipraz* n'agit pas en bloquant la synthèse de GSH.

Nous avons alors considéré la *glutathion réductase*, une enzyme à thiols qui, chez les êtres vivants, dans des conditions non pathologiques, maintient le rapport |GSSG|/|GSH| au voisinage de 1%. Les résultats suivants ont été obtenus :

1^{er}) la GSSG réductase est présente dans l'équipement enzymatique du schistosome,

2^e) ni l'*Oltipraz*, ni ses analogues dithiole-thione ne présentent d'activité inhibitrice de cette enzyme. En revanche, les disulfures obtenus par voie électrochimique peuvent être actifs.

Deux cas sont à considérer :

- les disulfures symétriques issus de dithiole-thiones présentant *in vitro* des propriétés schistosomicides sont eux-mêmes actifs ;

- si la dithiole-thione parente est inactive (36598 RP), les disulfures sont eux-mêmes inactifs ;

3^e) l'activité de la GSSG réductase est diminuée de moitié chez les schistosomes prélevés sur les souris traitées à l'*Oltipraz*, et sacrifiées 48 heures après son administration. Rien de tel n'est observé dans le cas de la GSH synthétase ;

4^e) en utilisant des disulfures radiomarqués, on met en évidence, par chromatographie d'exclusion sur gel et par dialyse à l'équilibre, une liaison de l'inhibiteur avec la forme réduite de l'enzyme GSSG réductase.

Ainsi, ces essais enzymatiques indiquent que, très vraisemblablement, le mécanisme d'inhibition est lié à l'élaboration de disulfures mixtes formés entre l'enzyme réduite et les disulfures isolés par voie électrochimique.

V. Discussion concernant le mécanisme d'action de l'*Oltipraz*

On considère successivement deux hypothèses : 1) l'*Oltipraz* est la molécule active, sans métabolisation : 2) l'*Oltipraz* constitue une prodrogue.

V.1 - L'*Oltipraz* agirait directement

Remarquons tout d'abord qu'il n'est pas possible de définir un pharmacophore à l'origine de l'activité schistosomicide. En effet, à côté des dithiole-1,2-thione-3 actives (*Oltipraz*, 35911 RP), il existe des dithiole-1,2-thione-3 inactives : 37528 RP ($R^4 = CH_3$; $R^5 = \text{phényl}$), 36598 RP ($R^4 = CH_3$; $R^5 = \text{pyridyl-2}$).

A l'opposé, des composés actifs *in vitro*, tels que les disulfures dissymétriques et symétriques, ne possèdent pas de noyau dithiole-1,2-thione-3. D'autres données ne sont pas favorables à l'action directe de l'*Oltipraz* :

- la lenteur de son action schistosomicide [2] ;

- l'évolution du taux de GSH chez le ver après administration d'*Oltipraz* à l'hôte parasité [5] : la décroissance d'un tiers intervient, après 24 heures, dans une proportion stoechiométrique si l'on considère que 2 équivalents GS^- , réagissant sur 1 mole d'*Oltipraz*, donnent 1 mole de métabolite ;

- l'action synergique exercée par l'administration conjointe de cystéine à l'hôte parasité [5] ;

Au total, il apparaît qu'il est plus raisonnable de privilégier la seconde hypothèse.

V.2 - L'Oltipraz constitue une prodrogue

Une première hypothèse, *chimique*, envisagée par les chercheurs de Rhône-Poulenc Santé, a consisté à admettre que l'activité schistosomicide était liée à la libération de soufre moléculaire qui accompagne la cyclisation en pyrrolo[1,2-a]pyrazine.

En utilisant le montage de foie perfusé, opérationnel dans les laboratoires Rhône-Poulenc Santé, nous avons tout d'abord commencé par vérifier que l'Oltipraz et le composé 36598 RP se cyclisaient bien en métabolites pyrrolo-pyrazine et indolizine (formes sulfoxydes), donc avec libération de soufre moléculaire. Or, le composé 36598 RP est totalement inactif ; il se métabolise pourtant comme l'Oltipraz, avec libération de soufre moléculaire. Ce dernier ne peut donc être tenu pour responsable de l'activité schistosomicide.

Dans une seconde hypothèse, *électrochimique*, nous avons envisagé que l'activité schistosomicide pourrait être liée à la production de radicaux thiyle relativement stables. Quelles conclusions peut-on tirer de l'étude électrochimique qui a été présentée [9] ?

a) Dans les solvants non aqueux, DMF, ACN, l'Oltipraz est réductible par 1 électron, de façon réversible (*tableau II*). Il n'existe pas de relation entre le E° de formation du radical anion thiyle et l'activité schistosomicide. Considérant le E° de l'Oltipraz (-910 mV e.c.s.) et celui du composé 36598 RP, inactif (-1070 mV e.c.s.), on pourrait penser que l'activité schistosomicide est liée à une valeur de E° peu négative. Cette hypothèse ne peut être retenue puisque le composé 35911 RP (-880 mV e.c.s.), qui devrait être le plus actif des trois, est en réalité dix fois moins actif que l'Oltipraz.

b) Le radical anion thiyle se cyclise ultérieurement. La vitesse de cyclisation a été mesurée, selon la dithiole-thione parente, soit par voltammétrie cyclique, soit par chronoampérométrie à double saut de potentiel [9]. On trouve que le $t_{1/2}$ le plus élevé est celui du radical donné par l'Oltipraz (7 s). On pourrait donc *a priori* relier activité schistosomicide et durée de vie du radical anion thiyle. Deux observations s'opposent à cette hypothèse :

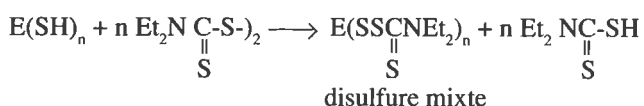
- le composé 36598 RP, inactif, a un $t_{1/2}$ de 1,4 s, cent fois supérieur à celui du composé 35911 RP (0,014 s), doté d'une activité non négligeable,

- le composé 37069 RP, trois fois plus actif que l'Oltipraz (mais 40 fois plus toxique) donne un radical qui se dismute instantanément (*tableau IV*).

De ces résultats, on peut déduire que la formation d'un radical anion thiyle de longue durée de vie ne constitue pas un prérequis de l'activité antihelminthique. Nous nous sommes donc tournés vers une troisième hypothèse, *enzymatique* : il a été signalé que la mort du schistosome était précédée d'une diminution du taux de GSH qui devient égal au tiers de sa valeur normale. Il y aurait entre les deux phénomènes une relation de cause à effet.

Les résultats fournis par les essais enzymatiques et les essais *in vitro* sont rassemblés dans le *tableau V*. Contrairement aux dithiole-thiones parentes inactives, les disulfures pyrrolo-pyrazine et indolizine que nous avons préparés par voie chimique (disulfures dissymétriques) ou par voie électrochimique (disulfures symétriques) s'avèrent constituer des inhibiteurs sélectifs de la GSSG réductase. Comme dans le cas des essais *in vitro*, l'activité est limitée aux disulfures issus de dithiole-thiones actives *in vivo*.

Un mécanisme d'inhibition d'une enzyme à thiol a été décrit dans le cas de l'aldéhyde déshydrogénase ([12, 13, 14]. Il implique la formation de disulfures mixtes et peut être schématisé ainsi :



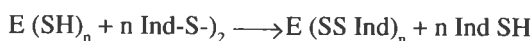
Dans le cas présent, la réaction faisant intervenir les disulfures

mixtes peut s'écrire [15],

- avec les disulfures dissymétriques :

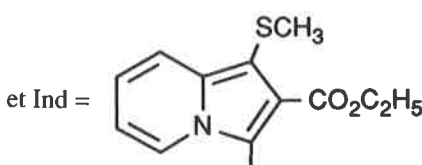


- avec les disulfures symétriques :



avec

RS = Glutathion ou cystéine



Toutefois, il reste à déterminer si ces métabolites pyrrolo-pyrazine sont formés exclusivement par l'hôte parasité ou par l'hôte *et* le schistosome. A cet effet, plusieurs expériences ont été réalisées pour évaluer les capacités métaboliques du schistosome lui-même.

V.3 Évaluation des capacités métaboliques du schistosome

Une expérience préliminaire permet de montrer que, chez la souris, les métabolites pyrrolo-pyrazine, qui avaient été caractérisés dans les laboratoires Rhône-Poulenc Santé 24 heures après l'administration d'Oltipraz, sont déjà formés après un délai de 6 heures. Ces métabolites sulfoxydes ont été caractérisés par chromatographie sur couches minces après extraction, dans le sérum des souris traitées à l'Oltipraz.

Dans une seconde expérience, un lot de 20 souris infestées depuis 6 semaines par *Schistosoma mansoni* est traité par une prise unique d'Oltipraz à la dose de 250 mg.kg⁻¹. Six heures après l'administration, les souris sont sacrifiées. Six cents couples de schistosomes sont prélevés et placés pendant 48 heures dans le milieu de survie tyrode + sérum de veau. Dans un tel milieu, les vers issus de souris non traitées à l'Oltipraz auraient une survie d'une dizaine de jours. Au contraire, les vers prélevés sur les souris ayant subi le traitement précédent ne survivent que trois jours. Toutefois, si les schistosomes, alors peu mobiles et désaccouplés, sont retirés du milieu de survie après 48 heures, broyés et extraits, on ne trouve trace ni d'Oltipraz ni de métabolites pyrrolo-pyrazine, dans le broyat. Ainsi, il apparaît que :

- les métabolites pyrrolo-pyrazine, qui étaient présents dans le sérum de souris 6 heures après l'administration d'Oltipraz, n'ont pas encore pénétré les schistosomes à l'issue de ce délai de 6 heures, ou, s'ils ont pénétré, c'est en quantité insuffisante pour qu'on puisse les caractériser ;

- l'Oltipraz avait bien pénétré puisque les schistosomes sont désaccouplés et sont destinés à mourir dans un délai de 24 heures, dans leur milieu de survie ;

- les métabolites pyrrolo-pyrazine sont formés exclusivement par l'hôte, chez lequel la métabolisation est équivalente à une détoxification. Pour preuve, les dithiole-thiones incapables de se cycliser (atome d'azote en position inadéquate tel que le 37069 RP) sont très toxiques ;

- l'Oltipraz qui a pénétré les schistosomes a été métabolisé en une forme qu'il est impossible de caractériser sans disposer de molé-

cules marquées. La métabolisation de l'*Oltipraz* par le schistosome est confirmée par une dernière expérience.

Six cents couples de schistosomes sont prélevés et broyés dans du sérum physiologique. Ils sont placés pendant 24 heures au contact d'une solution contenant de l'*Oltipraz* (1,2 mg/4 ml). A l'issue de ce délai, on ne caractérise dans la solution ni *Oltipraz*, ni métabolites pyrrolo-pyrazine (on le retrouverait quantitativement dans un blanc ne contenant pas le broyat de schistosomes).

En l'état actuel de nos connaissances, nous pouvons conclure ainsi :

1) l'*Oltipraz* est une prodrogue générant des métabolites qui constituent des inhibiteurs de la GSSG réductase du ver. Diminution du taux de GSH et mort du schistosome sont corrélées ;

2) ces métabolites sont des disulfures dont le mécanisme d'action serait analogue à celui décrit dans le cas de l'inhibition de l'aldéhyde déshydrogénase par le disulfiram ;

3) les disulfures inhibiteurs de la GSSG réductase que nous avons préparés ont un pouvoir schistosomicide inférieur à celui de l'*Oltipraz in vitro*, nul *in vivo*. Ils ne paraissent posséder qu'une activité résiduelle. Il semble donc logique d'admettre que le métabolite actif chez le schistosome soit le disulfure ouvert formé à la suite de l'attaque *in vivo* par GS⁻. L'inhibition de la GSSG réductase procéderait selon le schéma donné figure 4 ;

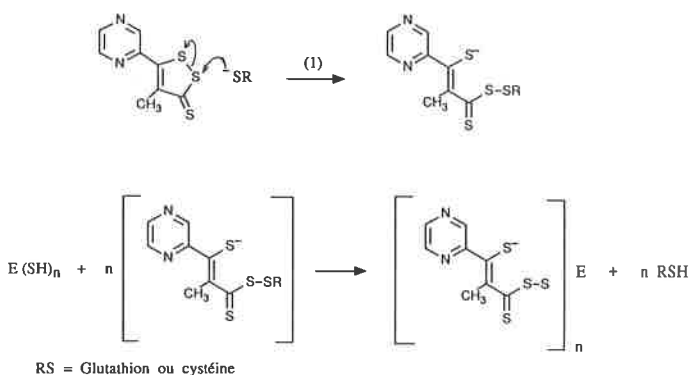


FIGURE 4. - Mécanisme hypothétique de l'inhibition de la GSSG réductase par les disulfures pyrrolo-pyrazine et indolizine.

4) l'équipement enzymatique du schistosome ne lui permet pas de métaboliser l'*Oltipraz* jusqu'au stade pyrrolo-pyrazine. La raison pour laquelle la forme ouverte donnée figure 4 ne se cyclise pas reste inconnue. On ne peut faire que des suppositions, telles que :

• l'isomérisation Z/E serait ralentie ;

• la forme ouverte pourrait donner des réactions jumelles. Chez la souris parasitée, prédominerait la métabolisation en pyrrolo-pyrazine. Chez le schistosome, le groupement -CS₃G serait réduit par GS⁻ en thiocarboxylate -CS₂, qui ne subirait plus l'attaque nucléophile par l'atome d'azote pyrazinique.

Remerciements : Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat avec la société Rhône-Poulenc Santé (RPS) que je remercie, ainsi que les chercheurs dont les noms suivent : MM. M. Barreau, G. Jolles, J.-P. Leroy, M. Messer, M. Vuilhorgne, de RPS ; D. Fleury, F. Frappier, M. Largeron et T. Martens, de mon propre groupe de recherche, et N. Moreau, du CERCOA, CNRS, Thiais.

Références

- [1] M. Barreau, C. Cotel, C. Jeanmart, *French patent*, Rhône-Poulenc Industries, n° 760 3604, **1972**.
- [2] J.-P. Leroy, M. Barreau, M. Cotel, C. Jeanmart, M. Messer, F. Benazet, *Current. Chemother*, **1978**, *10*, 148.
- [3] A. Bieder, B. Decouvelaere, C. Caillard, H. Depaire, D. Heusse, C. Ledoux, M. Lemar, J.-P. Leroy, L. Raynaud, C. Snozzi, J. Gregoire, *Arzneim. Forsch. (Drug. Res.)*, **1983**, *33* (II), 1289.
- [4] D. Heusse, M. Marlard, J. Bredenbac, B. Decouvelaere, J.-P. Leroy, A. Bieder, H. Jumeau, *Arzneim. Forsch. (Drug. Res.)*, **1985**, *35* (II), 1431.
- [5] E. Bueding, P. Dolan, J.-P. Leroy, *Res. Comm. Chem. Pharmacol.*, **1982**, *37* (2), 293.
- [6] M.B. Fleury, M. Largeron, M. Barreau, M. Vuilhorgne, *Tetrahedron*, **1985**, *41* (18), 3705.
- [7] M. Largeron, D. Fleury, M.B. Fleury, *Tetrahedron*, **1986**, *42* (1), 409.
- [8] M. Largeron, T. Martens, M.B. Fleury, *Tetrahedron*, **1987**, *43* (15), 3421.
- [9] M. Largeron, T. Martens, M.B. Fleury, *J. Electroanal. Chem.*, **1988**, *252*, 99.
- [10] M. Largeron, T. Martens, M.B. Fleury, *Tetrahedron letters*, **1989**, *30* (7), 815.
- [11] F. Frappier, M. Azoulay, J.-P. Leroy, *Biochem. Pharmacol.*, **1988**, *37* (14), 2864.
- [12] J.H. Stromme, *Biochem. Pharmacol.*, **1963**, *12*, 157.
- [13] J. Hald, E. Jacobsen, *Lancet*, **1948**, 1001.
- [14] R.A. Dietrich, V. Gene Ervin, *Mol. Pharmacol.*, **1971**, *7*, 301.
- [15] N. Moreau, T. Martens, M. Largeron, J.-P. Leroy, M.B. Fleury, communication par affiches, Société Française de Chimie, Palaiseau, septembre **1989**.