

## ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DE DÉRIVÉS DU BENZIMIDAZOLE

### BIOLOGIC ACTIVITY OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Rachid ZNIBER,<sup>a\*</sup> Ahmed MOUSSAIF,<sup>a</sup> Redouane ACHOUR,<sup>a</sup> Mostafa EL GHOUL,<sup>a</sup> Abdelkrim FILALI MALTOUF,<sup>b</sup> Abdel Illah MEKKAK<sup>a</sup> et Abdelkamel HARRATA<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie Organique Hétérocyclique, Faculté des Sciences, Avenue Ibn Batouta, B.P. 1014 RP. Rabat, Maroc

<sup>b</sup>Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences, Avenue Ibn Batouta, B.P. 1014 RP. Rabat, Maroc

<sup>c</sup>Laboratoire de Spectrométrie de Masse, Iowa State University, 1707, Gilman Hall, Ames, IA 50011, USA

Reçu le 16 décembre, 2008

Afin d'observer l'effet de certains dérivés du benzimidazole sur différentes bactéries, nous avons effectué des tests antibactériens en utilisant différentes bactéries telles que : *Escherichia coli* W 3350, DH 5 $\alpha$  et *Bacillus Subtillis*.

Nous avons remarqué que la structure des molécules testées rentre en jeu. De plus, leur taille, la physiologie et le potentiel génétique de la cellule visée doivent-être prises en considération.

To observe the effect of some benzimidazole derivatives on various bacteria, we made antibacterian tests by using various bacteria such us: *Escherichia coli* W 3350, DH 5 $\alpha$  and *Bacillus Subtillis*.

We noticed that the structure of the molecules tested returns in game. Also, their sizes, the physiology and the genetic potential of the aimed all must be considered.

### INTRODUCTION

Dans cette partie de notre travail, il nous a paru intéressant d'effectuer des tests antibactériens afin d'observer l'effet de certains dérivés du benzimidazole sur différentes bactéries à savoir : *Escherichia coli* W 3350 et DH 5 $\alpha$ , et *Bacillus subtilis*.

Il est connu que les dérivés benzimidazoliques comptent parmi les composés hétérocycliques qui ont reçu le plus d'attention du fait de leurs applications dans des domaines aussi variés tel que la médecine. En effet, il a été montré que les dérivés benzimidazoliques ont une activité antimicrobienne,<sup>1-10</sup> analgésique<sup>11-15</sup> et anti-inflammatoire.<sup>16-17</sup>

### MATERIEL ET METHODES

#### 1) Les souches bactériennes utilisées

**a. *Escherichia coli* :** Cette bactérie appelée communément colibacille est très utilisée en microbiologie car elle est bien caractérisée et

maîtrisée sur les plans physiologique et génétique. Cette bactérie de la famille des coliformes a été initialement isolée de l'intestin de l'homme et fait partie de la flore inoffensive de ce dernier. Certaines souches de cette famille sont pathogènes et leur détection dans les milieux environnants (eaux, sols) ou les aliments, constituent un indice de contamination dite fécale. Les coliformes fécaux sont donc des indicateurs de contamination. Contrairement aux autres, les souches dites de laboratoire ne sont pas pathogènes et constituent d'excellents "cobailles" pour les recherches biochimiques, génétiques, moléculaires et en l'occurrence les tests des effets antibactériens de substances naturelles ou de synthèse. Sur le plan taxonomique, cette bactérie est non sporulante et dite à Gram négatif. En effet, elle possède une enveloppe constituée de 3 compartiments :

Une membrane externe, un espace péri plasmique renfermant des protéines et une membrane interne classique est constituée d'une bicouche phospholipidique et de protéines.

\* Autor corespondant : zniber@fsr.ac.ma

Deux souches de référence ont été utilisées dans nos essais : *Escherichia coli* W 3350 et DH 5 $\alpha$ .

**b. *Bacillus subtilis*** : Cette autre bactérie constitue la seconde référence pour les microbiologistes. Elle est sporulante et fait partie du groupe des Gram positifs. Son enveloppe est constituée d'une épaisse couche de peptidoglycane et de la bicouche phospholipidique classique.

Les deux types de bactéries utilisées possèdent donc, outre les différences génétiques et physiologiques, une différence fondamentale qui nous intéresse dans ce contexte à savoir la structure et l'organisation de leur enveloppe. Donc la perméabilité aux substances de ces deux bactéries est fondamentalement différente.

Les souches bactériennes utilisées font partie de la collection du Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences de Rabat. Elles sont maintenues sur un milieu nutritif complet liquide ou solidifié par de l'agar-agar et mises à pousser sur les mêmes milieux à 37°C.

## 2) Méthodes

Les tests effectués sont réalisés comme suit :

**a.** Sur milieu solide par la méthode de diffusion : le milieu complet liquéfié (25 mL) est coulé dans la boîte de Pétri et laissé se solidifier. Une culture bactérienne (0,2 mL) en phase exceptionnelle de croissance et à Densité Optique (DO) voisine de 1 à 620 nm est additionnée à 3 mL de milieu complet semi gélosé.

L'ensemble est coulé sur la première couche de milieu solide. Après solidification, des petits filtres de 3 mm de diamètre, préalablement stérilisés, sont déposés dans la boîte (3 à 4 filtres par boîte). Ensuite des volumes précis (10-20 ou 50 $\mu$ l) de la

solution de la substance à tester sont déposés sur les filtres. L'ensemble est incubé une nuit à 37°C dans une étuve. Les résultats sont appréciés en terme de présence ou pas d'un halo d'inhibition de la croissance des bactéries. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et noté en mm.

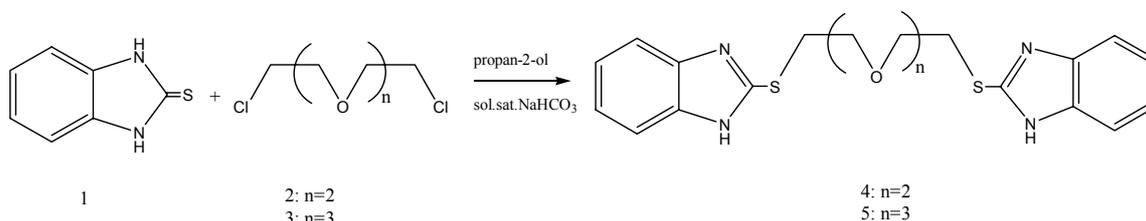
Les essais ont été, à chaque fois, réalisés en double et 5 tests ont été effectués. Les résultats sont donnés en exprimant la moyenne des différents tests.

**b.** Sur milieu liquide : 5 mL de milieu liquide complet ont étéensemencés par 0,1 mL de culture bactérienne en phase exponentielle de croissance. Un volume précis (10-20 ou 50 $\mu$ L) de la substance à tester est ajouté à la culture et l'ensemble est incubé sous agitation dans un incubateur une nuit à 37°C. Le résultat est apprécié par la présence ou pas d'un trouble bactérien dans le tube par comparaison à un témoin positif (bactéries seules sans substances) et un témoin négatif (milieu seul sans bactéries ni substances).

## PREPARATIONS DE COMPOSES BENZIMIDAZOLIQUES

Les produits testés dans ce travail ont été obtenus par différentes méthodes de synthèse puis caractérisés par les techniques d'analyses suivantes : RMN  $^1\text{H}$  et masse.

**1)** Nous avons effectué les réactions d'alkylations de la benzimidazole-2-thione **1** par les polyéthylèneglycols **2** et **3** en présence du propan-2-ol comme solvant et d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. Seuls les 1,n-bis-(2-mercapto-benzimidazolyl) polyéthylèneglycols **4** et **5** ont été obtenus avec un bon rendement (Schéma 1) :



Schema 1

**2)** L'action du 1,2-dibromoéthane **6** par défaut sur la benzimidazole-2-thione **1** dans le propan-2-ol en présence d'une solution saturée de bicarbonate de sodium nous a permis d'isoler un seul produit avec un bon rendement : le 1,2-bis-(2-mercapto benzimidazolyl) éthane **7**. Ce dernier,

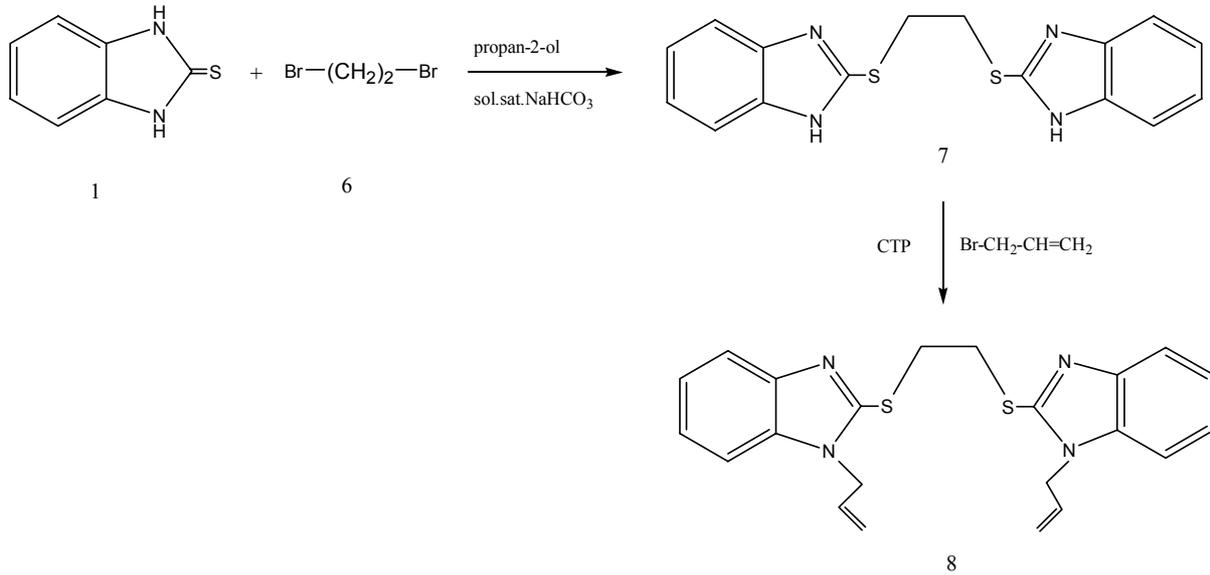
traité par le bromure d'allyle dans les conditions de la catalyse par transfert de phase, a conduit au produit **8** (schéma 2).

**3)** Nous avons examiné par la suite l'action d'un dipôle **11** sur le benzimidazole dialkylé en positions 1,2 **10** (composé obtenu par action du

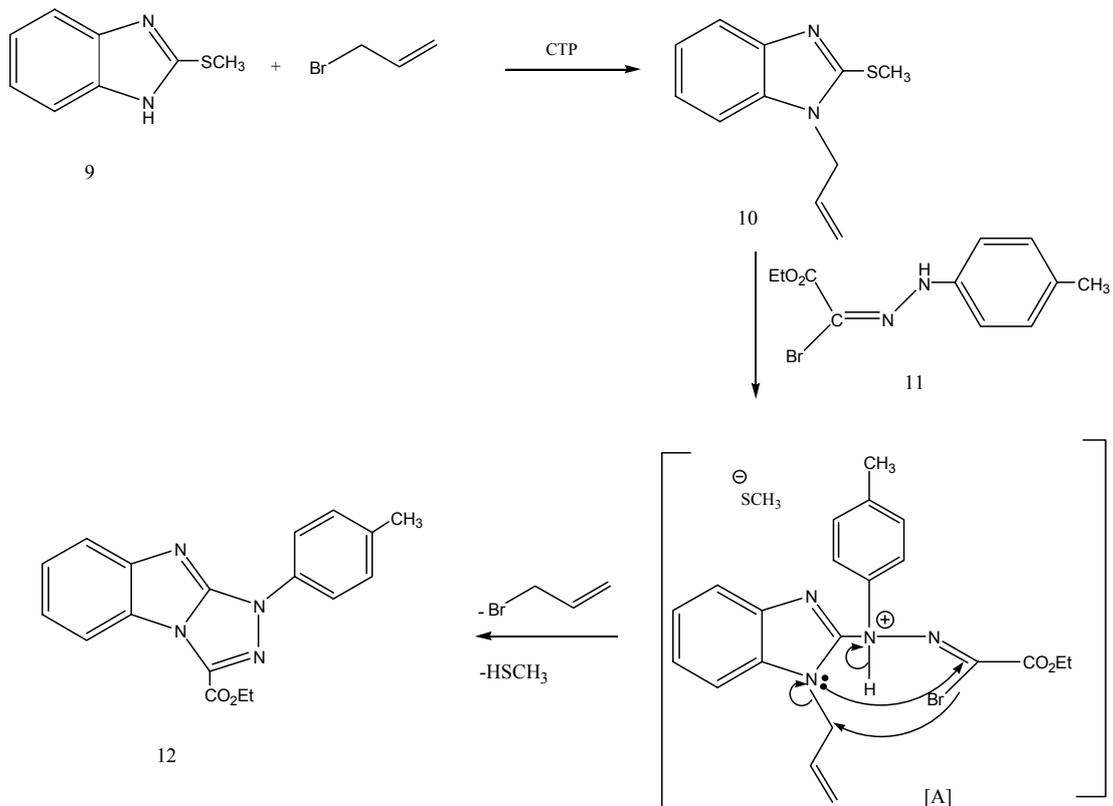
bromure d'allyle sur le 2-méthylmercaptobenzimidazole **9** dans les conditions de la catalyse par transfert de phase) afin d'avoir des informations sur la relation structure-activité. Nous avons

effectué le chemin réactionnel indiqué dans le schéma 3.

Notons qu'un second produit ouvert a été également isolé à côté du produit **12**.



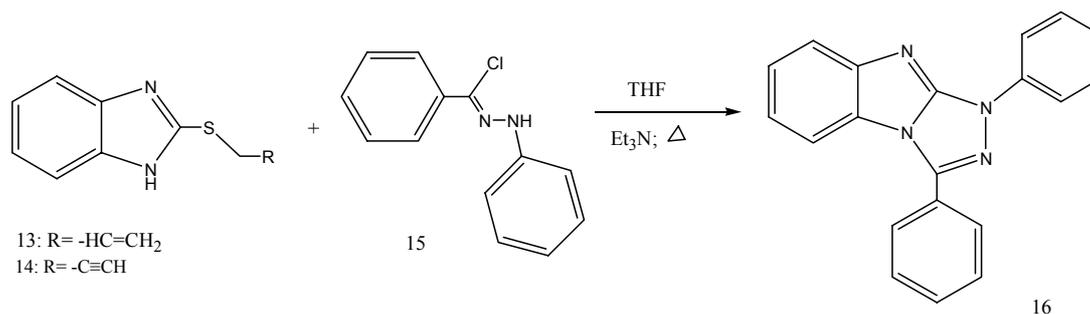
Schema 2



Schema 3

4) La condensation de la diphénylnitrilimine **15** avec les 2-alkyl-mercapto benzimidazoles **13** et **14** a été réalisée au reflux du tétrahydrofurane pendant

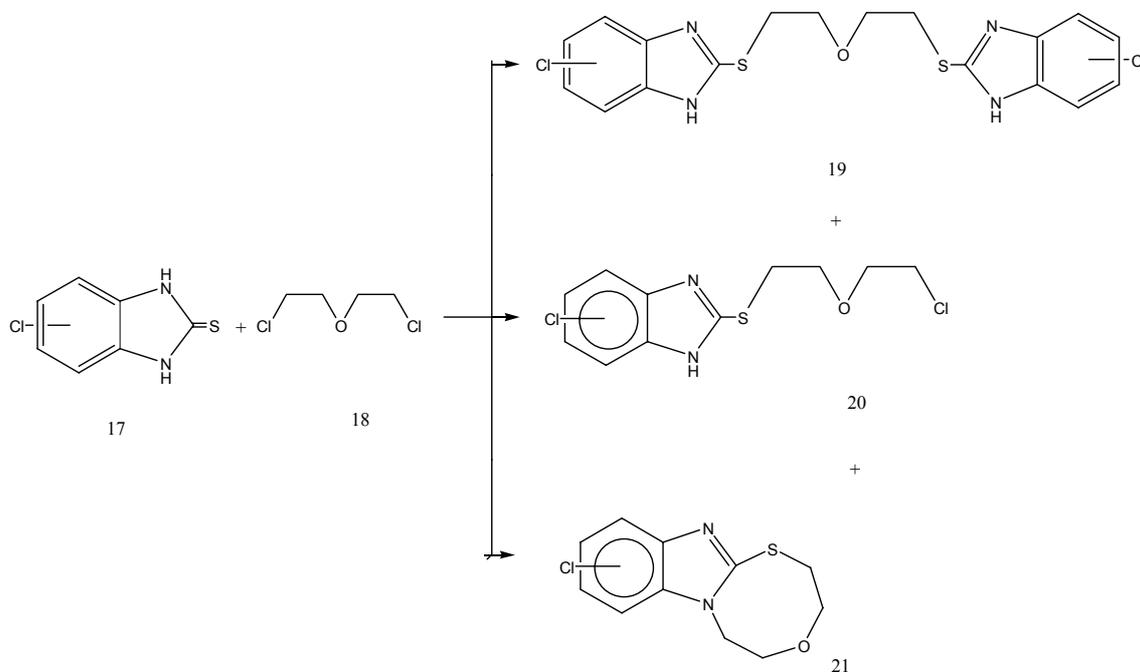
24 heures en présence de la triéthylamine. Un seul produit de structure triazolique **16** a été isolé (schéma 4).



Schema 4

5) Dans un dernier temps, et afin d'examiner l'influence d'un substituant en position 5(6) de la benzimidazole-2-thione 1 sur le cours de la réaction, il nous a paru intéressant d'étudier la condensation de la 5-chlorobenzimidazole-2-thione **17** avec le

dichloroéthylèneglycol **18**. La réaction a été effectuée dans les conditions de la catalyse par transfert de phase liquide-solide. Elle a conduit à un mélange de trois composés **19-21** qui ont été séparés par chromatographie sur colonne (schéma 5).



Schema 5

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1) Résultats

Les résultats des six produits testés sont rassemblés dans les tableaux I et II.

Les solvants utilisés pour dissoudre les molécules testées (Acétone/DMSO et Acétone/Méthanol) n'ont pas montré d'effet sur la croissance des bactéries, dans les conditions des tests (jusqu'à 50 µl déposés par filtre) (Planche 1).

Aucune inhibition de la croissance, ni des G<sup>+</sup> ni des G<sup>-</sup>, n'a été observée pour : **4** et **5** (Planches 1 et 3).

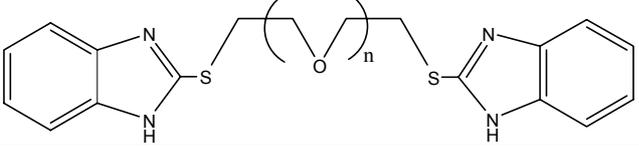
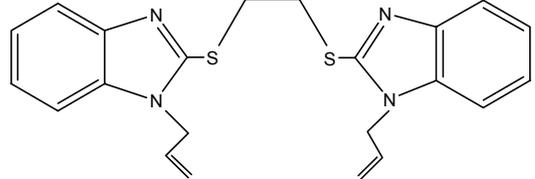
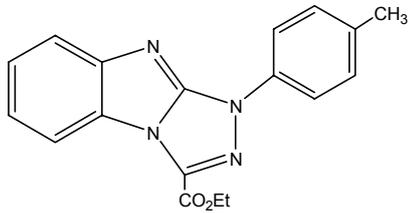
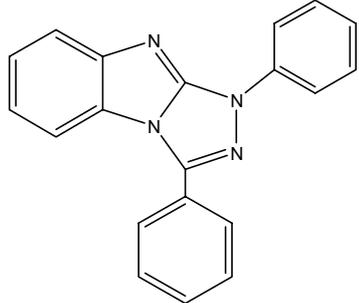
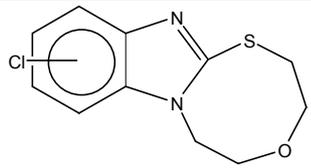
Les produits **12**, **16**, **21** ont un effet uniquement sur les bactéries G<sup>+</sup>, une inhibition claire est

obtenue à partir de 10 µl déposés sur filtre (soit environ 20 µg de substance). Le diamètre du halo d'inhibition est situé entre 10,5 mm et 17 mm. Cette faible variation du diamètre suggérerait que l'intensité de l'inhibition est la même pour 10 µl que pour 50 µl (Planche 2).

Le produit **8** montre un spectre d'action plus large. Il inhibe la croissance aussi bien des G<sup>-</sup> que des G<sup>+</sup>. L'action sur les G<sup>+</sup> est plus intense que sur les G<sup>-</sup> (diamètre du halo voisin de 10,5 mm chez les G<sup>-</sup> et de 16 à 20 mm chez les G<sup>+</sup>) (Planches 1,4 et 5).

Il est à noter qu'aucune des substances testées n'a montré un effet limité aux G<sup>-</sup> (Planche 4).

Tableau 1  
Produits testés

Références	Structures	Effet	
		G <sup>-</sup>	G <sup>+</sup>
4 : n = 2 5 : n = 3		-	-
8		+	+
12		-	+
16		-	+
21		-	+

## 2) Discussion

Il est clair que la structure de la molécule testée rentre en jeu. Cependant la taille des molécules devrait être prise en considération ainsi que la physiologie et le potentiel génétique de la cellule visée.

Ainsi, dans les cas d'absence d'effet, quatre hypothèses peuvent-être formulées :

La molécule rentre mais ne touche en rien les fonctions vitales cellulaires, voir même qu'elle peut-être métabolisée par la bactérie.

La molécule ne rentre pas dans la cellule en question, l'enveloppe de cette dernière constituerait

une barrière pour la pénétration de la molécule testée du fait de la grosse taille de l'enveloppe (un canal protéique par exemple).

La molécule est inactivée à l'extérieur de la cellule par des enzymes excrétées par les bactéries ciblées.

La molécule en question rentre dans la cellule mais elle est, soit inactivée par un mécanisme de défense cellulaire soit refoulée immédiatement à l'extérieur de la cellule par un mécanisme spécifique. Ces hypothèses sont formulées par analogie avec les mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Tableau 2

Tests des effets antibactériens des substances

Substance testée	Concentration	Solvant
<b>21</b>	20 mg/ 1,5 mL	DMSO/ Acétone
<b>12</b>	20 mg/ 1mL	DMSO
<b>16</b>	20mg / 1mL	DMSO/ Acétone
<b>4</b>	20mg / 1mL	Méthanol

<b>5</b>	20 mg/ 2 mL	Acétone / Méthanol
<b>8</b>	20 mg/ 2,5 mL	Acétone / Méthanol / DMSO 1 / 1 / 0,5
Solvant 1	Acétone / DMSO (1/1)	
Solvant 2	Acétone / Méthanol (1/1)	

	Bactéries cibles	DH5α			W3350			Bacillus subtilis		
	Quantité (en µl)	10	25	50	10	25	50	10	25	50
Substances Testés	<b>4</b>	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance		
	<b>5</b>	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance		
	Solvant 1	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance		
	Solvant 2	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance		
	<b>12</b>	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			13,5   10,5   15		
	<b>8</b>	10   10,5   11,5			11   10   10,5			16   19   20		
	<b>21</b>	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			10,5   11   16		
<b>16</b>	Pas d'inhibition de la croissance			Pas d'inhibition de la croissance			11   13   17			

## PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion non corrigés ont été pris en capillaires sur un appareil Buchi 510. Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés sur un appareil Varian FT 60 MHz. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane pris comme référence interne. Les solvants utilisés étant le chloroforme deutérié ou le diméthylsulfoxyde deutérié. Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectromètre de masse TSQ 700 (Finnigan MAT, San José) 70eV.

### 1) Préparation des composés 4 et 5

Mode opératoire général :

A une solution de 9 mmoles de la benzimidazole-2-thione (**1**) et 13,5 mmoles du dichloro-polyéthylène-glycol **2** or **3** dans un mélange de propan-2-ol et d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. On porte le mélange à reflux pendant 1 h 30. Après filtration du produit qui précipite et lavage à l'eau, il est recristallisé dans l'éthanol.

**a.** Caractéristiques du composé **4** : Rdt : 85% ; F(°C) : 184-186 (éthanol) ; formule brute :  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$  ; Spectre de masse : ion moléculaire  $\text{M}^+$  (m/z) : 414 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) : 7,05-7,45 (m ; 8H) ; 3,72 (t ; 4H ; J = 6,33 Hz) ; 3,58 (s ; 4H) ; 3,45 (t ; 4H ; J = 6,33 Hz).

**b.** Caractéristiques du composé **5** : Rdt : 80% ; F(°C) : 167-169 (éthanol) ; formule brute :  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$  ; Spectre de masse : ion moléculaire  $\text{M}^+$  (m/z) : 458 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) : 7,15-7,52 (m ; 8H) ; 3,82 (t ; 4H ; J = 5,55 Hz) ; 3,62 (m ; 8H) ; 3,37 (t ; 4H ; J = 5,55 Hz).

### 2) Préparation des composés 7 et 8

**a.** Composé **7** : A 1 g ( $70 \cdot 10^{-4}$  mole) de la benzimidazole-2-thione **1** contenue dans 40  $\text{cm}^3$  d'un mélange de propan-2-ol et d'une solution saturée de bicarbonate de sodium (1/1), on ajoute  $35 \cdot 10^{-4}$  mole du 1,2-dibromoéthane. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 1h30mn. On laisse refroidir le mélange. Le produit qui précipite est filtré, lavé par l'eau, puis recristallisé dans l'éthanol.

Rdt : 25% ; F(°C) : 256-258 (éthanol) ; Spectre de masse : IE :  $\text{M}^+$  (m/z) : 326 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) : 7,00-7,70 (m,8H) ; 3,75 (s,4H).

**b.** Composé **8** : A 0,0031 mole du composé **7** et 0,0077 mole de BTBA, on ajoute 0,0077 mole de soude dans 40  $\text{cm}^3$  de diméthylformamide à température ambiante. Après filtration, le solvant

est éliminé sous pression réduite. Le solide blanc obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

Rdt : 60% ; Spectre de masse : IE :  $\text{M}^+$  (m/z) : 406 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,60-7,20 (m,8H) ; 5,95 (m,2H) ; 5,20 (m,4H) ; 4,50 (d,4H) ; 3,51 (t,4H)

### 3) Préparation du composé 12 :

A une solution de 6 mmoles du 2-alkylmercaptobenzimidazole et 7 mmoles du dipôle **11** dans 30 ml du tétrahydrofurane anhydre, on ajoute lentement sous agitation une solution de 1 ml de triéthylamine dans 5 ml du même solvant. Le mélange est porté au reflux du solvant pendant une nuit sous azote.

La solution est ensuite filtrée sous vide pour éliminer le bromure de triéthylammonium avant d'évaporer le solvant et l'excès de triéthylamine sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par 10 ml d'éthanol puis abandonné à 0°C pendant une nuit. Le précipité formé est filtré puis lavé avec de l'éthanol froid et recristallisé dans l'éthanol.

On isole le 5-éthoxycarbonyl-2-(p-méthylphényl)-1,2,4-triazolo-[4,3-a]-benzimidazole **12** : Rdt : 60% ; F(°C) : 164-166 (éthanol) ; Spectre de masse :  $\text{M}^+$  (m/z) : 320 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,26-8,35 (m ; 8H) ; 4,63 (q ; 2H ; J = 7,2 Hz,  $-\text{CH}_2-$ ) ; 2,40 (s ; 3H,  $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_5$ ) ; 1,55 (t ; 3H ; J = 7,2 Hz,  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}$ ).

### 4) Préparation du composé 16 :

On suit le même mode opératoire que pour **12**. On isole le 2,5-diphényl-1,2,4-triazolo[4,3-a]benzimidazole **16** : Rdt : 70% ; F(°C) : 124-126 (éthanol) ; Spectre de masse :  $\text{M}^+$  (m/z) : 310 ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,12-8,33 (m ; 14H) ; 4,63 (q ; 2H ; J = 7,2 Hz,  $-\text{CH}_2-$ ) ; 2,40 (s ; 3H,  $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_5$ ) ; 1,55 (t ; 3H ; J = 7,2 Hz,  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}$ ).

### 5) Préparation du composé 21 :

A une solution de **9** mmoles de la benzimidazole-2-thione (**17**) et 13,5 mmoles du dichloroéthylène-glycol **18** dans 80  $\text{cm}^3$  de diméthylformamide, on ajoute 13,5 mmoles de bicarbonate de potassium et 0,3 mmole de bromure de tétra-n-butylammonium. On porte le mélange sous agitation énergétique à température ambiante pendant 4 heures. Après filtration des sels minéraux, le solvant est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu obtenu est chromatographié sur colonne de gel de silice. (éluant : hexane/acétate d'éthyle/dichlorométhane : 70/10/20).

Trois produits ont été isolés : **19**, **20** et **21**.

Caractéristiques du composé **21**: Rdt : 10% ; F(°C) :

146-148 (éthanol); Spectre de masse: M<sup>+</sup> (m/z) :

254;256) ; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 7,20-7,70 (m ;3H) ; 3,86 (t ;2H ; J = 5,25 Hz) ; 4,60 (m ; 4H) ; 3,10 (t ; 2H ; J = 5,25 Hz).

## CONCLUSION

Ces hypothèses peuvent être formulées aussi pour les interprétations des cas d'effets observés sur la G<sup>+</sup> et non sur les G<sup>-</sup> ( pas de pénétration ou pas d'inactivation chez la G<sup>-</sup> etc...).

Pour les cas où une certaine activité a été notée, encore par analogie avec l'effet des antibiotiques et leur spectre d'action (large ou restreint à une certaine catégorie de bactérie), on peut formuler plusieurs hypothèses quant au mode d'action de la substance testée. En effet, l'inhibition peut avoir lieu au niveau de :

La perméabilité membranaire, dont la perturbation entraîne la dissipation du potentiel électrique membranaire (énergie transmembranaire essentielle pour le transport des nutriments à travers la membrane de la bactérie).

La synthèse de l'ADN (la réplication) : processus impératif pour la duplication du matériel héréditaire de la bactérie et sa transmission aux bactéries filles issues de la division.

La synthèse des ARN (la transcription): ces derniers sont indispensables pour la cellule. Elles sont structurellement et fonctionnellement impliquées dans la synthèse des protéines.

La synthèse des protéines : ces dernières constituent les enzymes et les structures cellulaires.

Pour pouvoir trancher entre ces diverses hypothèses, d'autres investigations s'imposent et nécessitent un marquage radioactif par exemple des substances en question afin de les suivre et de déterminer leurs sites d'interaction et d'action.

L'approche de la corrélation structure/effet est cependant intéressante à mener.

A ce propos quelques observations préliminaires méritent attention :

Les molécules testées sont toutes hydrophobes (insolubles dans l'eau). Elles sont potentiellement interactives avec une membrane cellulaire (constituée de phospholipides et de protéines).

Les substances ayant montré une activité (sur G<sup>+</sup> ou/et sur G<sup>-</sup>) semblent présenter des structures similaires ou proches. Le produit **8** active sur les deux bactéries, mérite réflexion notamment serait-elle active en tant que molécule intacte ou en tant que monomères générés par la rupture du pont disulfure ?

L'analyse devrait faire appel à la comparaison avec la structure des antibiotiques.

## REFERENCES

1. S. Nakajima, I. Tanaka et T. Yasumo, *Japanese Patent*, **1961**, 10, 978, *Chem.Abstr.*, **1963**, 56, 13964f.
2. A.N. Krasovskii et P.M. Kochergin, *Khim.Geterotsilk. Soedin.*, **1969**, 316.
3. a) H.O. Hankovsky et K. Hideg, *Acta. Chim. (Budapest)* **1969**, 61, 69.  
b) K. Hideg, O. Hideg, F. Ordog, L. Vaczy L et G.Mehes, *British Patent* **1971**, 1,234,058, *Chem.Abstr.*, **1971**, 75, 98570g
4. J.J. D'Amico, *U.S.Patent* **1961**; 2,976,293; *Chem.Abstr.*, **1961**, 55, 17654f
5. W. Knobloch, G. Winkelmann et K. Rintelen, *Arch.Pharm.(Weinheim)*, **1958**, 291, 113.
6. J.A. Van Allan, *J.Org.Chem.*, **1956**, 21, 24.
7. T.L.Rebstock, C.D. Ball, C.L. Hamner et H.M.Sell, *J.Amer.Chem.Soc.*, **1956**, 78, 583.
8. Laboratoires Cassenne, *British Patent* **1969**; 1,152, 814 ; *Chem.Abstr.*, **1970**, 72, 12729u
9. H.O. Hankovsky et K. Hideg, *Acta. Chim. (Budapest)* **1970**, 63.
10. H.K. Pujari, H.R. Sharma, R. Dahiya, S. Kumar, Y. Murakami and M.J. Tani, *Fluorine Chem.*, **1990**, 46, 343.
11. J. Mohan et G.S.R. Anjaneyulu, *Indian J. Chem. Sect. B*, **1989**, 28B, 631.
12. R. Dahiya et H.K. Pujari, *India. J. Fluorine Chem.*, **1989**, 42, 245.
13. B.R. Sharma et H.K. Pujari, *Indian J.Chem.*, **1988**, Sect. B, 27B, 121.
14. V. Bindal et H.K. Pujari, *Indian J.Chem.*, **1987**, Sect. B, 26B, 532.
15. V. Bindal, K. Jain, R.N. Handa et H.K. Pujari, *Indian J.Chem.* **1986**, Sect. B, 25B(8), 807.
16. T. Narayan, S.A. Kumar et H.K. Pujari, *Indian J.Chem.* **1986**, Sect. B, 25B, 267.
17. S.M. Rida, H.M. Salama, I.M. Labouta et S.A. Yasser, *Pharmazie* **1986**, 41, 324.