



HAL
open science

Synthèse et activité biologique (spectre antibactérien, inhibition de l'ADN gyrase) d'analogues ouverts et monocycliques des quinolones

Hassan Bayrakdar

► **To cite this version:**

Hassan Bayrakdar. Synthèse et activité biologique (spectre antibactérien, inhibition de l'ADN gyrase) d'analogues ouverts et monocycliques des quinolones. Autre. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1992. Français. NNT : 1992NAN12078 . tel-01747548

HAL Id: tel-01747548

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747548>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE DE NANCY 1
1992

GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

THESE

présentée et soutenue publiquement
le 29 Octobre 1992

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANCY 1

Mention Chimie Thérapeutique

par

Hassan BAYRAKDAR

Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies
de Chimie et Physico-chimie Moléculaires

Sujet

**SYNTHESE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE (SPECTRE
ANTIBACTERIEN. INHIBITION DE L'ADN GYRASE)
D'ANALOGUES OUVERTS ET MONOCYCLIQUES DES
QUINOLONES**

MEMBRES DU JURY

- Président : V. LOPPINET, Professeur (Faculté de Pharmacie-Nancy I)
- Juges : C. SELVE, Professeur (Faculté des Sciences-Nancy I)
: J. SCHWARTZBROD, Professeur (Faculté de Pharmacie-Nancy I)
- Rapporteurs : N. MOREAU, Directeur de Recherche (C.E.R.C.O.A.-Paris)
: A. HAEMERS, Professeur (Universitaire Instelling Antwerpen-Belgique)



UNIVERSITE DE NANCY I

GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

Président : G. SIEST, Professeur de Biochimie Pharmacologique
(URA CNRS 597 - Centre du Médicament - U.F.R. PHARMACIE - NANCY)

Membres du Bureau

Collège I : (Professeurs)

J. ATKINSON, Professeur de Pharmacologie cardiovasculaire
Pharmacologie cardiovasculaire - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

A.M. BATT, Professeur de Toxicologie
URA CNRS 597 - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

J.C. BLOCK, Professeur Santé Environnement
Santé et Environnement - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

J.C. JARDILLIER, Professeur de Biochimie
GIBSA - U.F.R. PHARMACIE - REIMS

J.P. KANTELIP, Professeur en Pharmacologie Fondamentale
Pharmacologie - U.F.R. MEDECINE - BESANCON

B. KRAFFT, Professeur de Biologie du Comportement
URA CNRS 1293 - U.F.R. STB - VANDOEUVRE

V. LOPPINET, Professeur de Chimie Thérapeutique
Chimie et Biochimie des Vecteurs supramoléculaires biologiquement actifs
U.F.R. PHARMACIE - NANCY

P. NETTER, Professeur de Pharmacologie
URA CNRS 1288 - U.F.R. MEDECINE - VANDOEUVRE

A. NICOLAS, Professeur de Chimie Analytique
URA CNRS 597 - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

L. SCHWARTZBROD, Professeur de Virologie - Immunologie
Dépt. Microbiologie - U.F.R. PHARMACIE - NANCY

P. VERT, Professeur de Pédiatrie
INSERM U272 - U.F.R. MEDECINE - NANCY

Collège II : (Maîtres de conférences)

J. MOUNIE, Docteur ès Sciences Pharmaceutiques et biologiques
Formation Biochimie Pharmacologique - U.F.R. PHARMACIE - DIJON

D. DESOR, Docteur de Biologie du Comportement
URA CNRS 1293 - U.F.R. STB - VANDOEUVRE

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Chimie Thérapeutique Anti-infectieuse, à la Faculté de Pharmacie de Nancy, dirigé par le Professeur Vincent LOPPINET à qui j'adresse mes vifs remerciements pour m'avoir fait le double honneur de me former et de présider le jury de cette thèse.

J'exprime mes remerciements à Monsieur Achille HAEMERS, Professeur de Chimie Thérapeutique à l'Université d'Antwerpen (Belgique), rapporteur de cette thèse, pour avoir bien voulu me faire le grand honneur de juger mon travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Madame Nicole MOREAU, Directeur de Recherche au C.E.R.C.O.A.(C.N.R.S.-Paris) et Professeur à l'Université de ParisVI, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire afin de réaliser les tests Anti ADN gyrase et pour avoir accepté la lourde charge d'être rapporteur et d'avoir jugé mon travail.

Je remercie vivement Monsieur Claude SELVE, Professeur de Chimie Organique à la Faculté des Sciences (Nancy), pour avoir accepté de juger ce travail et pour son amical concours lors de l'interprétation de la géométrie de quelques molécules.

Je remercie également Madame Jeanine SCHWARTZBROD, Professeur de Bactériologie-Virologie-Immunologie à la Faculté de Pharmacie (Nancy), pour avoir bien voulu me faire le grand honneur de juger mon travail.

J'exprime mes vifs remerciements à Madame Anne-Marie GALIPIENSO qui a effectué la mesure des CMI des composés synthétisés ainsi qu'à l'équipe de notre laboratoire.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe de C.E.R.C.O.A. à Paris pour son amical concours ainsi qu'à Geneviève, Sophie et Sandrine.

Je remercie également Florence et Maryse de leur aide pour les corrections de cette thèse.

*Tous mes remerciements pour leur amitié, leur aide et leurs encouragements à :
Imad, Bachar, Yassine, Hassan, Nidal, Maher, Maher, Ahmade, Amer, Ziade, Omar,
Samir, Abdulghani, Talal, Yasser, Abdulwahab, Mouafak, Samer, Ghuiath,
Mahmoude, Ghassane, Bachir, Mouhsain, Moussa.*

A la Fondation RAMZY (Damas)

شركة رمزي بيرقدار وأولاده

qui par son aide morale et matérielle, m'a donné la possibilité de poursuivre mes études.

A mes parents qui n'ont jamais cessé de me soutenir,

A ma femme qui m'a encouragé pendant ce travail,

A mes enfants Yasser et Nahal,

A ma famille,

A mes amis,

je dédie cette thèse.

PLAN

I-OBJECTIF DE RECHERCHE.	1
II-PARTIE THEORIQUE.	3
1-ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR L'ADN GYRASE ET SES INHIBITEURS.	4
1.1-ADN GYRASE.	5
1.1.1-Rappels sur la structure de L'ADN.	5
1.1.2-Spécificité de l'ADN bactérien.	6
1.1.3-Définition, rôle et classification des topoisomères.	7
1.1.3.1-Les topoisomères eucaryotes	9
1.1.3.11-Topoisomères I.	9
1.1.3.12-Topoisomères II.	9
1.1.3.2-Les topoisomères procaryotes.	10
1.1.3.21-Topoisomères I.	10
1.1.3.22-Topoisomères II (ADN gyrase).	10
1.1.4-L'ADN gyrase.	11
1.1.4.1-Structure.	11
1.1.4.2-Interaction ADN-ADN gyrase.	11
1.1.4.3-Mécanisme d'action de la gyrase.	15
1.2-INHIBITEURS DE L'ADN GYRASE.	17
1.2.1-Inhibiteurs de type quinolone.	17
1.2.1.1-Généralités : Les 2 générations de quinolones.	17
1.2.1.11-Quinolones polycycliques.	23
1.2.1.111-Quinolones bicycliques.	24
1.2.1.112-Quinolones tricycliques.	24
1.2.1.12-Quinolones monocycliques.	26
1.2.1.2-Activité antibactérienne des quinolones.	28
1.2.1.21-Spectre antibactérien.	28
1.2.1.22-Relations "structure-activité".	30
1.2.1.3-Mécanisme d'action des quinolones.	33
1.2.1.31-Effets des quinolones sur la cellule bactérienne.	33
1.2.1.311-Effets sur la morphologie bactérienne.	33
1.2.1.312-Effet bactéricide des quinolones.	34
1.2.1.313-Effet des quinolones sur le métabolisme de l'ADN, l'ARN et des protéines.	36
1.2.1.314-Induction de la réponse SOS.	37
1.2.1.315-Action sur les plasmides.	38
1.2.1.32-Activité des quinolones sur les topoisomères autres que la gyrase.	39
1.2.1.321-Topoisomères I procaryote.	39
1.2.1.322-Topoisomères I eucaryote.	39
1.2.1.323-Topoisomères II eucaryote.	39
1.2.2-Autres inhibiteurs de l'ADN gyrase.	39
1.2.3-Autres inhibiteurs des topoisomères.	40
1.2.3.1-Inhibiteurs de la topoisomérase I eucaryote.	41
1.2.3.2-Inhibiteurs de la topoisomérase II eucaryote	41
1.3-MECANISME D'INHIBITION DE L'ADN GYRASE PAR LES QUINOLONES.	43

1.4-MECANISME DE RESISTANCE BACTERIENNE AUX QUINOLONONES.	46
1.4.1-Généralités.	46
1.4.2-Résistance liée aux mutations de la gyrase.	46
1.4.2.1-Mutations sur le gène <i>gyrA</i> .	46
1.4.2.2-Mutations sur le gène <i>gyrB</i> .	47
1.4.3-Résistance liée au passage transmembranaire.	47
1.5-CONCLUSION.	48
2-ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA CHIMIE DES ACIDES 1,4-DIHYDROPYRIDONE-3-CARBOXYLIQUES ET DE LEURS ANALOGUES "OUVERTS".	49
2.1-SYNTHESE DES 3-N-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARYL) AMINOBT-2-ENOATES D'ETHYLE Ia-f ET DES 3-N-CYCLOALCOYL(ARALCOYL,ARYL) AMINOBT-2-ENENITRILES IIa-d	52
2.1.1-Objectifs pharmacochimiques.	
2.1.2-Stratégie de synthèse.	52
2.1.2.1-Principales voies d'accès à la structure S ₁ .	55
2.1.2.2-Choix des méthodes retenues.	56
2.1.3-Plan de synthèse.	58
2.1.4-Composés obtenus.	59
2.2-SYNTHESE DES N-ALCOYL(CYCLOALCOYL, ARALCOYL,ARYL)AMINOMETHYLENECYANOACETATES D'ETHYLE IIIa-g ET DES N-ALCOYL(CYCLOALCOYL, ARALCOYL, ARYL)AMINOMETHYLENEMALONONITRILES IVa-e	60
2.2.1-Objectifs pharmacochimiques.	60
2.2.2-Stratégie de synthèse des précurseurs de S ₂ .	62
2.2.3-Synthèse des esters III et nitriles IV.	64
2.2.3.1-Principales voies d'accès.	64
2.2.3.2-Choix des méthodes retenues.	64
2.2.4-Composés obtenus.	65
2.3-SYNTHESE DE:	
5-N-CYCLOHEXYLAMINO-2,4-DICYANOHEXA-2,4-DIENOATE D'ETHYLE 1_a, 1_b; 7-N,N-DIMETHYLAMINO-5-N-CYCLOHEXYLAMINO-2,4-DICYANOHEPTA-2,4,6-TRIENOATE D'ETHYLE 2; 1-N-CYCLOHEXYL-6-N,N-DIMETHYLAMINOVINYL-2-OXO-1,2-DIHYDROPYRIDINE-3,5-DICARBONITRILE 3; 1-N-CYCLOHEXYL-2-OXO-5-HYDROXY-1,2-DIHYDRO-1,6-NAPHTYRIDINE-3-CARBONITRILE 4; ACIDE 1-N-CYCLOHEXYL-2-OXO-5-HYDROXY-1,2-DIHYDRO-1,6-NAPHTYRIDINE-3-CARBOXYLIQUE 5; 5-AMINO-2,4-DICYANOHEXA-2,4-DIENOATE D'ETHYLE 6 ET DU 2-AMINO-5-CYANO-6-METHYLPYRIDINE-3-CARBOXYLATE D'ETHYLE 7	66
2.3.1-Objectifs pharmacochimiques.	66
2.3.2-Stratégie de synthèse de S ₃ .	67
2.3.2.1-Obtention du 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4-diénoate d'éthyle. 1 au lieu de la dihydropyridimine S ₃ attendue.	67

2.3.2.2-Valorisation de 1 : Synthèse de l'acide 1,6-naphtyridine -2-one-3-carboxylique. 5	71
2.3.2.21-Synthèse du 7-N,N-diméthylamino-5-N-cyclohexylamino -2,4-dicyanohepta-2,4,6-triénoate d'éthyle 2	73
2.3.2.22-Synthèse du 1-N-cyclohexyl-6-N,N-diméthylaminovinyl -2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile 3	73
2.3.2.23-Synthèse du 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy -1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile 4	73
2.3.2.24-Synthèse de l'acide 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy -1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique 5	73
2.3.2.3-Synthèse d'analogues non substitués de 1 :	
Obtention de 5-amino-2,4-dicyanohepta-2,4-dienoate d'éthyle 6	
Obtention de 2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine -3-carboxylate d'éthyle 7	73
2.3.3-Composés obtenus.	75
2.4-SYNTHESE DE N,N-DIMETHYLAMINOMETHYLENEACYL- ACETATES D'ETHYLE 8-10; N-CYCLOALCOYL (ARALCOYL,ARYL)AMINOMETHYLENEACYLACETATES D'ETHYLE Va-v ET DES ACIDES N-(4-FLUOROPHENYL) AMINOMETHYLENEACYLACETIQUES 11-12.	75
2.4.1-Objectifs pharmacochimiques.	75
2.4.1.1-Enchaînement fonctionnel β -dicarboxylé :	
ester ou acide β -cétonique.	76
2.4.1.2-Profil "quinolone ouverte".	76
2.4.2-Stratégie de synthèse.	78
2.4.2.1-Principales voies d'accès à la structure S4	78
2.4.2.2-Choix des méthodes retenues et plan de synthèse.	79
2.4.3-Composés obtenus.	80-81
2.5-SYNTHESE DE 3-N,N-DIMETHYLAMINOMETHYLENE -4-OXO-6-METHYL-2-PYRONE 13; 3-N-ALCOYL (CYCLOALCOYL,ARYL)AMINOMETHYLENE-4-OXO-6- METHYL-2-PYRONES 14-40 ET DES ACIDES 1-ALCOYL (CYCLOALCOYL,ARYL)-4-OXO-6-METHYL-1,4-DIHYDRO- PYRIDINE-3-CARBOXYLIQUES VIa-s (struct.S5)	82
2.5.1-Objectifs pharmacochimiques.	82
2.5.2-Stratégie de synthèse.	85
2.5.2.1-Principales voies d'accès à la structure S5 .	85
2.5.2.1.1-Voie A : Synthèse de Narita.	85
2.5.2.1.2-Voie B : Synthèse de Agui et Kametani.	86
2.5.2.1.3-Voie C : Synthèse de Mittelbach.	88
2.5.2.1.4-Voies D et E : Synthèse de Kilbourn et Radl.	89
2.5.2.2-Choix des méthodes retenues.	90
2.5.3-Plan de synthèse.	90
2.5.4-Composés obtenus.	92-93
2.5.5-Fragmentométrie de masse des squelettes 14/40 et VI (struct. S5)	93
2.6-SYNTHESE DES 1-ALCOYL(ARYL)-4-OXO-6-METHYL -1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLATES D'ETHYLE VIIa-d ET D'ETHOXYCARBONYL- METHYLE VIIe	98
2.6.1-Objectifs pharmacochimiques.	98
2.6.2-Stratégie de synthèse.	98
2.6.2.1-Principales voies d'accès à la structure S8 .	98
2.6.2.2-Choix des méthodes retenues.	98

IV

2.6.3-Plan de synthèse et composés obtenus.	99
2.6.4-Fragmentométrie de masse des esters VII.	99
2.7-SYNTHESE DES ACIDES 1-ALCOYL(ARYL)-4-OXO-6-[(2-N,N-DIMETHYLAMINO)VINYL]-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUES VIII_{a-e} ET DE L'ACIDE-1-(4-METHOXYPHENYL)-4-OXO-6-[2-N(2,4-DICHLOROPHENYL-AMINO)VINYL]-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUE VIII_f.	102
2.7.1-Objectifs pharmacochimiques.	102
2.7.1.1-Analogie de géométrie moléculaire avec les quinolones de 2 ^{ème} génération.	102
2.7.1.2-Renforcement de l'effet chélatant du pôle carbonyle β-hydroxylé.	102
2.7.1.3-Augmentation de la lipophilie.	103
2.7.2-Stratégie de synthèse.	104
2.7.2.1-Principales voies d'accès à la structure S ₆ .	104
2.7.2.2-Choix des méthodes retenues.	105
2.7.3-Plan de synthèse et composés obtenus.	106
2.7.4-Fragmentométrie de masse du squelette S ₆ (dérivés VIII)	106
2.8-SYNTHESE DE L'ACIDE 1-(4-METHOXYPHENYL)-4-OXO-5-BROMO-6-METHYL-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUE 41.	109
2.8.1-Objectif pharmacochimique.	109
2.8.2-Stratégie, plan de synthèse et composé obtenu.	109
 III-PARTIE EXPERIMENTALE.	 110
 1-CHIMIE	 111
1.1-Obtention des 3-N-alcoyl(cycloalcoyl, aryl)aminobut-2-énoates d'éthyle Ia-f.	112
♦ Méthode de synthèse.	112
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	112
1.2-Obtention des 3-N-cycloalcoyl(aralcoyl, aryl)aminobut-2-énitriles IIa-d.	116
♦ Méthode de synthèse.	116
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	116
1.3-Obtention des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl)aminométhylèncyanoacétates d'éthyle IIIa-g.	118
♦ Méthode de synthèse.	118
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	119
1.4-Obtention des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl)aminométhylènemalononitriles IVa-e.	123
♦ Méthode de synthèse.	123
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	125
1.5-Obtention du 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle 1.	126

1.5.1-Obtention du stéréo-isomère (2Z,4E) 1a	126
♦ Méthode de synthèse.	126
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	127
1.5.2-Obtention du stéréo-isomère (2Z,4Z) 1b	128
♦ Méthode de synthèse.	128
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	129
1.6-Obtention du 7- <i>N,N</i> -diméthylamino-5- <i>N</i> -cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4,6-trièneoate d'éthyle 2 .	129
♦ Méthode de synthèse.	129
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	130
1.7-Obtention du 1- <i>N</i> -cyclohexyl-6- <i>N,N</i> -diméthylaminovinyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile 3 .	131
♦ Méthode de synthèse.	131
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	132
1.8-Obtention du 1- <i>N</i> -cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile 4 .	134
♦ Méthode de synthèse.	134
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	134
1.9-Obtention de l'acide 1- <i>N</i> -cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique 5 .	135
♦ Méthode de synthèse.	135
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	135
1.10-Obtention du 5-amino-2,4-dicyanohepta-2,4-dièneoate d'éthyle 6 .	136
♦ Méthode de synthèse.	136
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	136
1.11-Obtention du 2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle 7 .	137
♦ Méthode de synthèse.	
1.11.1-Au départ du 3-aminocrotononitrile.	
1.11.2-Au départ du produit 5-amino-2,4-dicyanohepta-2,4-dièneoate d'éthyle 6 .	137
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	137
1.12-Obtention des <i>N,N</i> -diméthylaminométhylèneacétates d'éthyle 8-10 .	138
♦ Méthode de synthèse.	138
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	138
1.13-Obtention des <i>N</i> -cycloalcoyl(<i>aralcoyl</i> , <i>aryl</i>)aminométhylèneacétates d'éthyle Va-v .	140
♦ Méthode de synthèse.	140
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	140
1.14-Obtention des acides <i>N</i> -(4-fluorophényl)aminométhylèneacétates 11-12 .	155
♦ Méthode de synthèse.	155
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	156

VI

1.15-Obtention de la 3- <i>N,N</i> -diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 13 .	157
♦ Méthode de synthèse.	157
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	157
1.16-Obtention des 3- <i>N</i> -alcoyl(cycloalcoyl, aryl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrones 14-40 .	158
♦ Méthode de synthèse.	158
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	158
1.17-Obtention des acides 1-alcoyl(cycloalcoyl, aryl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIa-s .	176
1.171-Obtention des acides 1-alcoyl(cycloalcoyl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIa-d au départ de la 3- <i>N,N</i> -diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 13 .	176
♦ Méthode de synthèse.	176
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	177
1.172-Obtention des acides 1-alcoyl(cycloalcoyl, aryl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIe-s au départ des 3- <i>N</i> -alcoyl(cycloalcoyl, aryl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrones 14-40 .	180
♦ Méthode de synthèse.	180
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	180
1.18-Obtention des 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylates d'éthyle VIIa-d et d'éthoxycarbonylméthyle VIIe	193
1.18.1-Obtention des 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylates d'éthyle VIIa-c .	193
♦ Méthode de synthèse.	193
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	194
1.18.2-Synthèse du 1-(3-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthyle VII d .	196
♦ Méthode de synthèse.	196
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	196
1.18.3-Synthèse du 1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthoxycarbonylméthyle VIIe .	197
♦ Méthode de synthèse.	197
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	198
1.19-Obtention des acides-1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6-[(2- <i>N,N</i> -diméthylamino) vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIIIa-e .	199
♦ Méthode de synthèse.	199
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	199
1.20-Obtention de l'acide-1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-[2- <i>N</i> (2,4-dichlorophénylamino)-vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIII f .	204
♦ Méthode de synthèse.	204
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	204

VII

1.21-Obtention de l'acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-5-bromo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique 41 .	205
♦ Méthode de synthèse.	205
♦ Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.	205
2-ACTIVITE BIOLOGIQUE.	207
2.1-Introduction.	208
2.2-Inhibition de l'activité de l'ADN gyrase.	208
2.2.1-Méthodologie.	208
2.2.1.1-Principe.	208
2.2.1.2-Préparation des réactifs.	208
2.2.1.21-Préparation de l'ADN gyrase.	208
2.2.1.211-Extraction de l'ADN gyrase.	208
2.2.1.212-Purification par chromatographie.	209
2.2.1.213-Concentration des fractions dialysées.	210
2.2.1.214-Caractérisation de la protéine ADN gyrase.	210
2.2.1.22-Préparation de l'ADN plasmidique pBR322 relâché (ADNr).	210
2.2.1.221-Préparation de la solution 1.	211
2.2.1.222-Préparation de la solution 2 (solution d'extraction).	211
2.2.1.223-L'extraction.	211
2.2.1.224-Test de surenroulement de l'ADN.	211
♦ Préparation du tampon d'électrophorèse.	211
♦ L'électrophorèse.	212
2.2.2-Inhibition de l'activité d'ADN gyrase par nos produits.	213
2.2.3-Résultats et discussion.	214
2.3-Activité antibactérienne.	216
2.3.1-Principe.	216
2.3.2-Méthodologie.	216
2.3.2.1-Préparation de l'inoculum.	216
2.3.2.2-Préparation des boîtes de Petri.	217
2.3.2.3-Lecture des résultats.	217
2.3.2-Resultats et discussion.	218
IV-CONCLUSION.	222
V-BIBLIOGRAPHIE.	226



I-OBJECTIF DE RECHERCHE

L'ADN gyrase, qui est une topoisomérase de type II de structure tétramérique (2 sous-unités A + 2 sous-unités B), catalyse un certain nombre de réactions vitales pour la biologie bactérienne, notamment en réalisant le surenroulement négatif de l'ADN chromosomique. Grâce à ce processus, le chromosome d'*E.coli* (par exemple), qui est un double brin d'ADN circulaire de 1300 μm de longueur, peut trouver place dans la cellule de cette bactérie (L: 2 μm) après spiralisations (en 65 domaines) et surenroulement (chaque domaine étant lui-même soumis à 406 supertours négatifs de 144 paires de bases).

Compte-tenu du rôle essentiel et de l'universalité de cette enzyme, on conçoit que la recherche d'inhibiteurs de l'ADN gyrase soit particulièrement active. Les pistes explorées depuis deux décennies (dérivés coumariniques, intercalants,.....) ont toutes mis en évidence le remarquable intérêt des quinolones polycycliques associant toujours un cycle 1,4-dihydropyridine-3-carboxylique (A) à un noyau aromatique (B) éventuellement ortho ou ortho et péri condensé avec un cycle (C). Des travaux récents ayant démontré que le cycle (A) pouvait, à lui seul, être porteur d'une puissante activité antibactérienne, nous avons eu pour objectif de rechercher des archétypes originaux en synthétisant des isologues polysubstitués du monocycle (A) des quinolones ainsi que leurs analogues "ouverts" polyfonctionnels qui procèdent tous deux d'une construction progressive et logique au départ de l'enchaînement 3-aminoprop-2-énoïque.

Toutes ces molécules (*cf. synoptique p.51*) ont été conçues afin d'optimiser une activité antibactérienne, potentiellement inscrite dans leurs structures notamment dans :

- la géométrie moléculaire (distances interatomiques, angles de valence,... mesurés à l'aide du logiciel de modélisation moléculaire Alchemy II) qui est superposable à celle du modèle oxacine.
- la présence d'enchaînements pharmacophores antibactériens (structure: ester β -cétonique, èneaminones; noyau dihydropyridone-3-carboxylique;.....).

Afin de présenter les résultats de cette recherche, nous avons très classiquement divisé notre mémoire en deux parties :

La première partie présente l'état de l'art, tant dans le domaine chimique que biologique, ce qui nous permet d'argumenter les objectifs pharmacochimiques, le choix des méthodologies utilisées pour chacune des 8 séries étudiées et de discuter les résultats biologiques.

La seconde partie de ce travail décrit les protocoles opératoires et précise les caractéristiques physico-chimiques, spectrales et biologiques des composés synthétisés.

II-PARTIE THEORIQUE

*1-ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR
L'ADN GYRASE ET SES INHIBITEURS*

1.1-ADN GYRASE

1.1.1-Rappels sur la structure de l'ADN

L'ADN (Acide désoxyribonucléique) est constitué de deux chaînes enroulées en une double hélice. Chacune d'entre-elles est formée d'une suite d'unités phosphate-(P)-sucre (S: désoxyribose) auxquelles sont attachées des bases puriques (Adénine, Guanine) ou pyrimidiques (Thymine, Cytosine). Chaque base d'un brin d'ADN est liée avec une base de l'autre brin par l'intermédiaire de liaisons par hydrogène, selon l'appariement suivant: Adénine(A)-Thymine(T); Guanine(G)-Cytosine(C). La *figure 1* précise la géométrie et la constitution de la double hélice d'ADN tandis que la *figure 2* présente la structure des bases puriques et pyrimidiques.

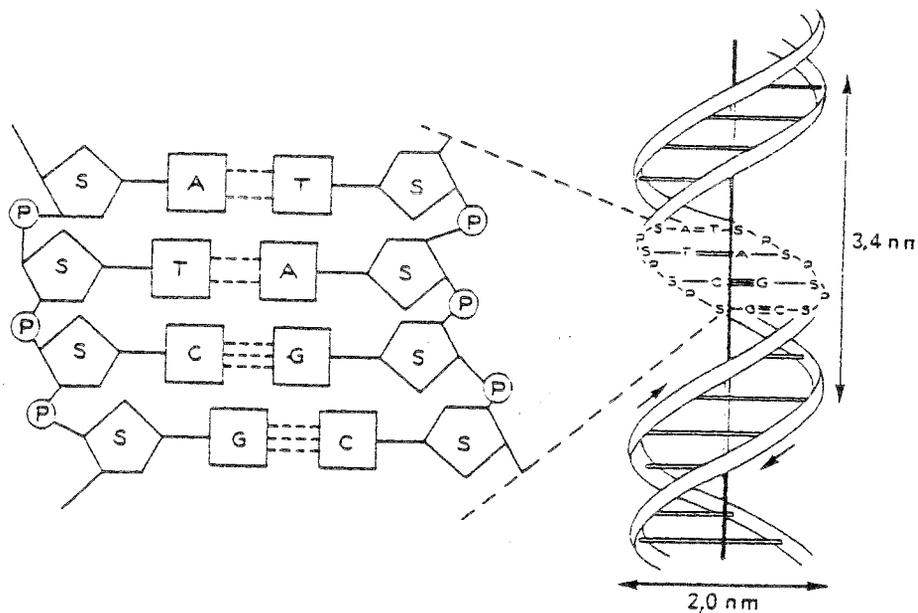
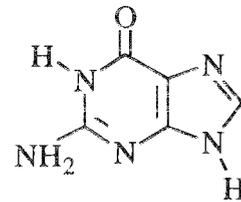
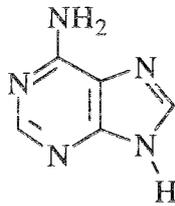
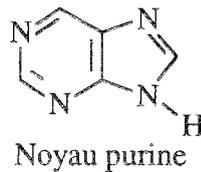


Figure 1: Structure de la double hélice d'ADN. D'après Watson et Crick (124)

A: Adénine, C: Cytosine, G: Guanine, T: Thymine

P: Phosphate, S: Sucre(Désoxyribose)

A) Bases puriques



B) Bases pyrimidiques

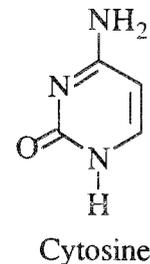
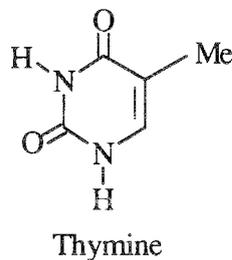
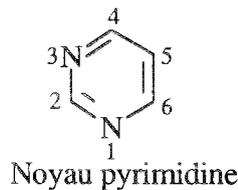


Figure 2 : Structures chimiques des bases puriques et pyrimidiques constitutives de l'ADN. Ces bases sont liées à l'atome de carbone-1' du désoxyribose qui, par son sommet-5', est fixé au groupement phosphate .

1.1.2-Spécificité de l'ADN bactérien

Le chromosome bactérien est unique, circulaire et formé d'une double hélice d'ADN d'une longueur considérable par rapport à la taille de la bactérie.

Chez *E.Coli* , par exemple, ce chromosome mesure 1300 μm de long alors que les dimensions de ce bacille n'excèdent pas 2 μm . Par conséquent, le chromosome ne peut tenir dans la cellule bactérienne qu'en subissant :

- d'une part, une spiralisation, à raison de 65 spirales ou domaines (longueur:20 μm) rattachés au noyau d'ARN (107).
- d'autre part, un surenroulement : chaque spirale est formée d'environ 400 supertours négatifs c'est-à-dire en sens opposé à celui de la spirale. Ce surenroulement négatif est réalisé par l'ADN gyrase (108), comme le schématise la figure 3.

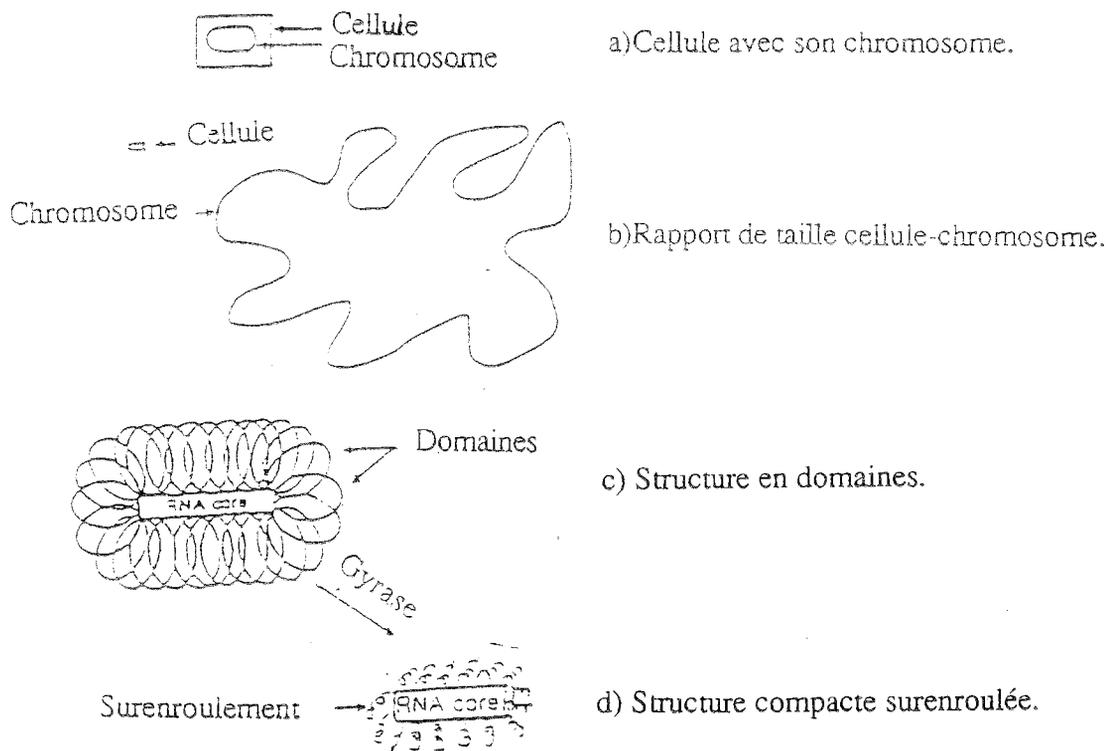
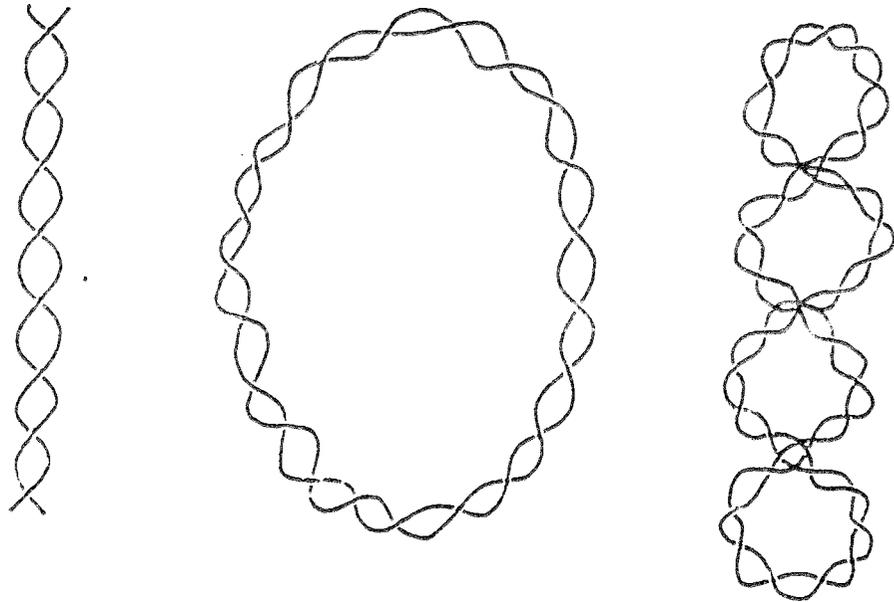


Figure 3: Structures relâchée et surenroulée du chromosome de *E. coli*.
D'après Smith (108)

1.1.3-Définition, rôle et classification des topoisomères

L'ADN peut exister sous diverses formes (74) : simple brin ou double brin, linéaire ou circulaire (figure 4). Dans ce dernier cas, il peut adopter deux configurations topologiquement différentes: relâchée et surenroulée (10). En effet, l'enroulement d'un brin autour de l'autre crée de sévères contraintes de torsion qui exigent la coupure de l'un au moins de ces deux brins. Donc, toute tension imposée doit être compensée par un vrillage de l'axe de la double hélice appelé surenroulement (74).

De nombreux événements cellulaires (réplication, transcription,...), en modifiant la topologie de l'ADN au sein de la cellule procaryote ou eucaryote, créent des contraintes topologiques qui sont supprimées par une famille d'enzymes connue sous le nom générique de topoisomères (87,117,123).



Linéaire

Circulaire relâché

Circulaire surenroulé

Figure 4: Les diverses conformations de l'ADN double brin. D'après Moreau (75).

Ces topoisomères sont traditionnellement classés en:

-**Topoisomères I**: qui introduisent une coupure temporaire sur **un** des deux brins d'ADN.

-**Topoisomères II**: qui introduisent une coupure temporaire sur les **deux** brins d'ADN. La *figure 5* schématise ces propriétés de coupure.

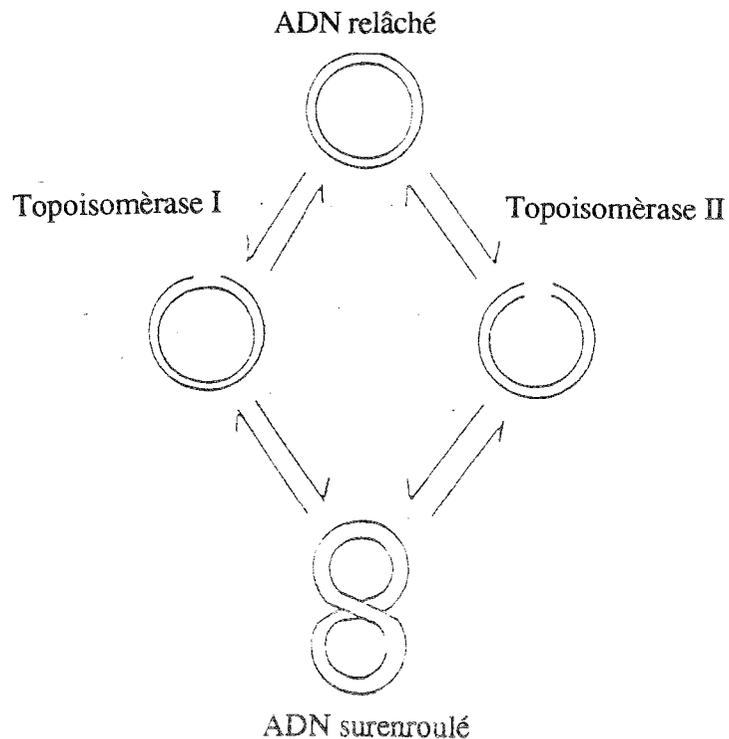


Figure 5: Effet des topoisomères de type I ou de type II sur un ADN double brin.

Le principal rôle des topoisomérases est d'introduire (exemple: ADN gyrase) ou au contraire d'enlever (exemple: topoisomérase I procaryote et eucaryote et topoisomérase II eucaryote) des supertours sur le double brin d'ADN (*figure 5*).

1.1.3.1-Les topoisomérases eucaryotes

1.1.3.11-Topoisomérases I

Les topoisomérases I caractérisées par un poids moléculaire situé entre 90 à 135 kDa. sont, en solution, présentes sous forme monomérique. Le mécanisme du passage du simple brin d'ADN est le suivant:

-Fixation de l'ADN: l'enzyme se lie à son substrat (acide nucléique) de manière non covalente.

-Coupure de l'ADN: tandis que l'enzyme crée une coupure temporaire sur le simple brin, une liaison covalente est créée de façon concomitante entre l'enzyme et l'ADN coupé.

-Passage du simple brin d'ADN.

Relégation: l'enzyme resoude l'ADN coupé au dépens de la liaison protéine-acide nucléique (**87**).

1.1.3.12-Topoisomérases II

Les topoisomérases II, caractérisées par un poids moléculaire situé entre 160 et 180 kDa., sont présentes, en solution, sous forme d'un homodimère. Compte-tenu de ses caractéristiques physico-chimiques (rayon de Stokes: 64-78 Å; coefficient de sédimentation : 9,2-11 S), on peut déduire que cette enzyme présente une structure tridimensionnel allongée plutôt que globulaire. La réaction catalysée par ces topoisomérases peut être analysée en 4 étapes successives (*figure 6*):

1-*Fixation de l'ADN:* le substrat se fixe sur l'enzyme de façon non covalente.

2-*Coupure de l'ADN:* l'enzyme crée une coupure temporaire et une liaison covalente sur les deux brins du segment d'ADN. Cette réaction nécessite la présence de cations divalents.

3-*Passage du double brin d'ADN:* il s'effectue lors de la fixation de l'ATP.

4-*Réligation et hydrolyse de l'ATP:* l'ATP est hydrolysé en ADP et pyrophosphate inorganique (**131**).

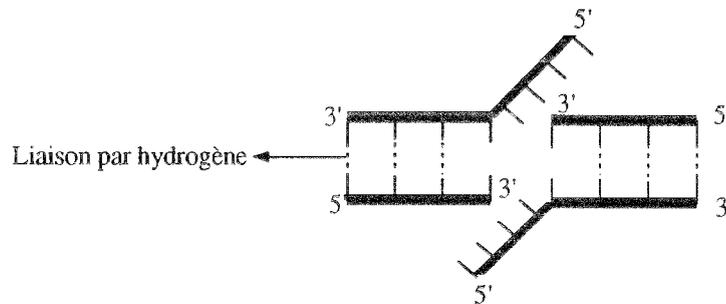


Figure 6: Activité de la topoisomérase II. D'après Smith et Lewin (109)

Les topoisomérases II sont capables de relâcher 6 à 7 molécules d'ADN surenroulées par minute en opérant, si les conditions optimales sont rassemblées, de manière processive (l'étape limitante de la réaction étant la dissociation du complexe ADN relâché-ADN).

1.1.3.2-Les topoisomérases procaryotes

1.1.3.21-Topoisomérases I

La topoisomérase I de *E.coli* possède un poids moléculaire de 110 kDa et se présente, en solution, sous forme monomérique.(29). Sa principale activité enzymatique consiste à relâcher l'ADN surenroulé par élimination successive de supertours négatifs, selon une procédure en 5 étapes (29,117,123):

- 1-*Fixation de l'ADN*: l'enzyme provoque une rupture topologique locale mettant à nu un simple brin d'ADN.
- 2-*Coupure de l'ADN*: la coupure s'effectue sur simple brin d'ADN par l'enzyme avec formation d'une liaison covalente phosphotyrosine avec l'extrémité 5'-P de l'ADN.
- 3-*Interaction avec l'ADN*: l'enzyme interagit de façon non covalente avec l'extrémité 3'-P du brin coupé et également avec le brin complémentaire.
- 4-*Passage du simple brin d'ADN*.
- 5-*Régénération de l'enzyme*: un supertour négatif a été éliminé.

Cette réaction ne nécessite pas la présence d'ATP mais, par contre, requiert la présence de magnésium.

1.1.3.22-Topoisomérases II (ADN gyrase)

Compte-tenu de l'importance de cette enzyme dans le contexte de ce travail, nous souhaitons lui consacrer une étude plus approfondie.

1.1.4-L'ADN gyrase

1.1.4.1-Structure

L'ADN gyrase, identifiée en 1976 par Gellert et coll. (41, 42), présente la caractéristique d'être la seule topoisomérase capable d'introduire des supertours négatifs dans l'ADN circulaire (74). Elle est formée de deux sous-unités protéiques A et B, engendrées respectivement par les gènes *gyrA* et *gyrB* (116), mais l'enzyme active est le tétramère A₂B₂, Mr : 373560.(88)

-Sous-unités A: le gène *gyrA* de *E.coli* a été cloné par Swanberg et Wang (118) et correspond à une protéine de 875 amino-acides (Mr=96887). Les sous-unités A de l'ADN gyrase sont responsables, à la fois du cisaillement temporaire de chacun des brins d'ADN du chromosome bactérien et du rescellement des segments rompus: elles constituent le site de l'activité coupure-resoudure de l'enzyme.(116).

-Sous-unités B: le gène *gyrB* de *E.coli* a été cloné par Adachi et coll.(1) et correspond à une protéine de 804 amino-acides (Mr=89893). Les sous-unités B sont responsables du surenroulement négatif de l'ADN double brin après que ceux-ci aient été coupés par les sous-unités A. Les sous-unités B sont les sites de l'activité ATPasique.

Le tableau I ci-après résume les propriétés physiques des sous-unités protéiques A et B de la gyrase de *E.coli*.

Tableau I: Propriétés de l'ADN gyrase de *E.coli*. D'après Reece et Maxwell (96)

	Protéine A	Protéine B
Gène :	<i>gyr A</i> (2625 pb, nalA)	<i>gyr B</i> (2412 pb, cou)
Mr :	96887(875 amino-acides)	89893(804 amino-acides)
Rôle :	coupure-resoudure de l'ADN	fonction ATPasique
Site d'action des inhibiteurs:	cible des quinolones (Acide nalidixique, Ciprofloxacine,...)	cible des coumarines (Coumermycine A1, Novobiocine,...)

1.1.4.2-Interaction ADN-ADN gyrase

La première étape de la réaction de surenroulement est la formation d'un complexe entre 115 à 140 paires de bases de l'ADN et le tétramère A₂B₂ de l'enzyme (*figure 7*).

-Le schéma 7a montre clairement l'enveloppement de l'ADN (boucle sombre) par les sous-unités A (A/partie supérieure de la boucle) et B (B/partie inférieure de la boucle) de la gyrase. Les lettres N et C précisent les positions des extrémités aminées (N) et carboxyliques (C) des protéines respectives A et B constitutives du tétramère.

-Le schéma 7b présente une coupe transversale du complexe ADN-ADN gyrase.

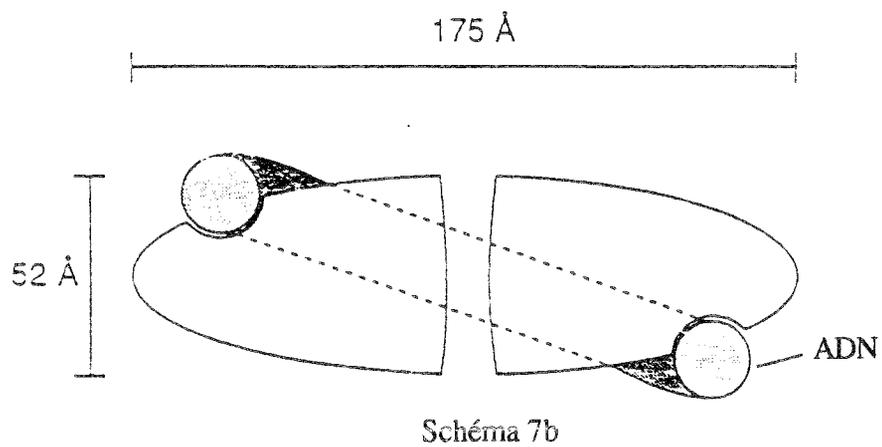
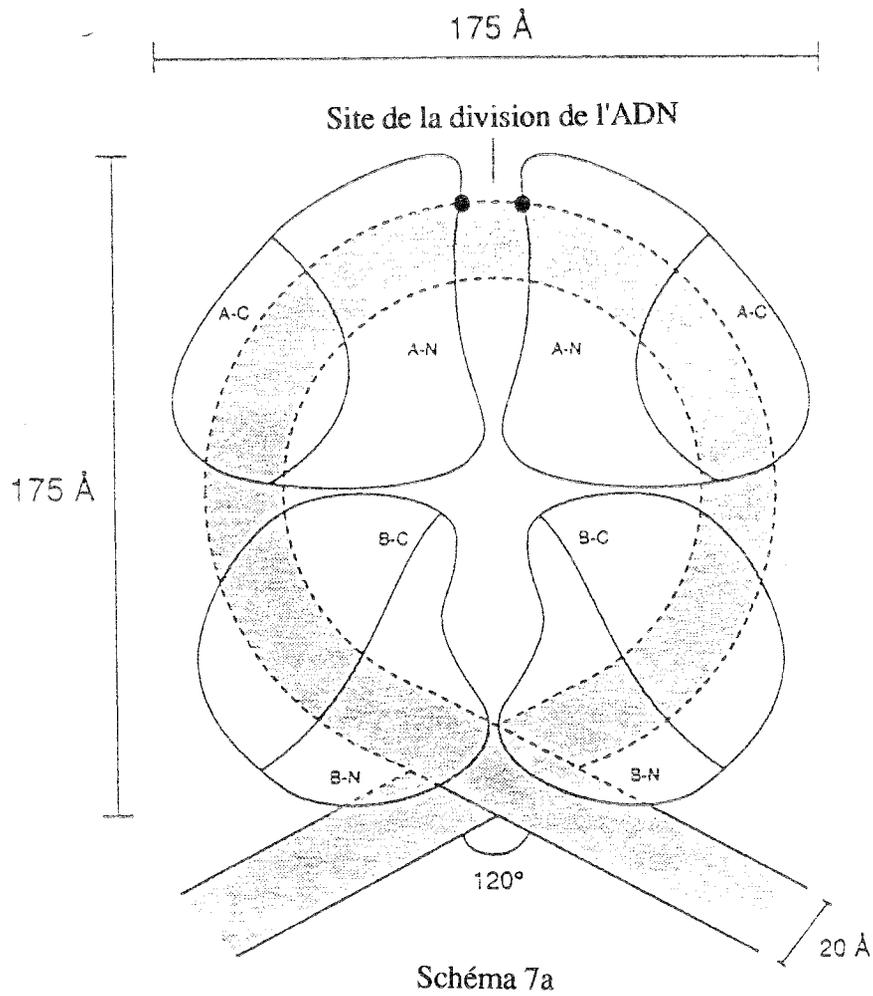


Figure 7. Structure du complexe ADN gyrase-ADN. D'après Reece et Maxwell (96)

L'interaction de la gyrase (dont le mécanisme d'action est précisé ultérieurement, (cf.§ 1.1.4.3-p. 15) avec l'ADN obéit à une séquence de 5 réactions schématisées dans la *figure 8*.

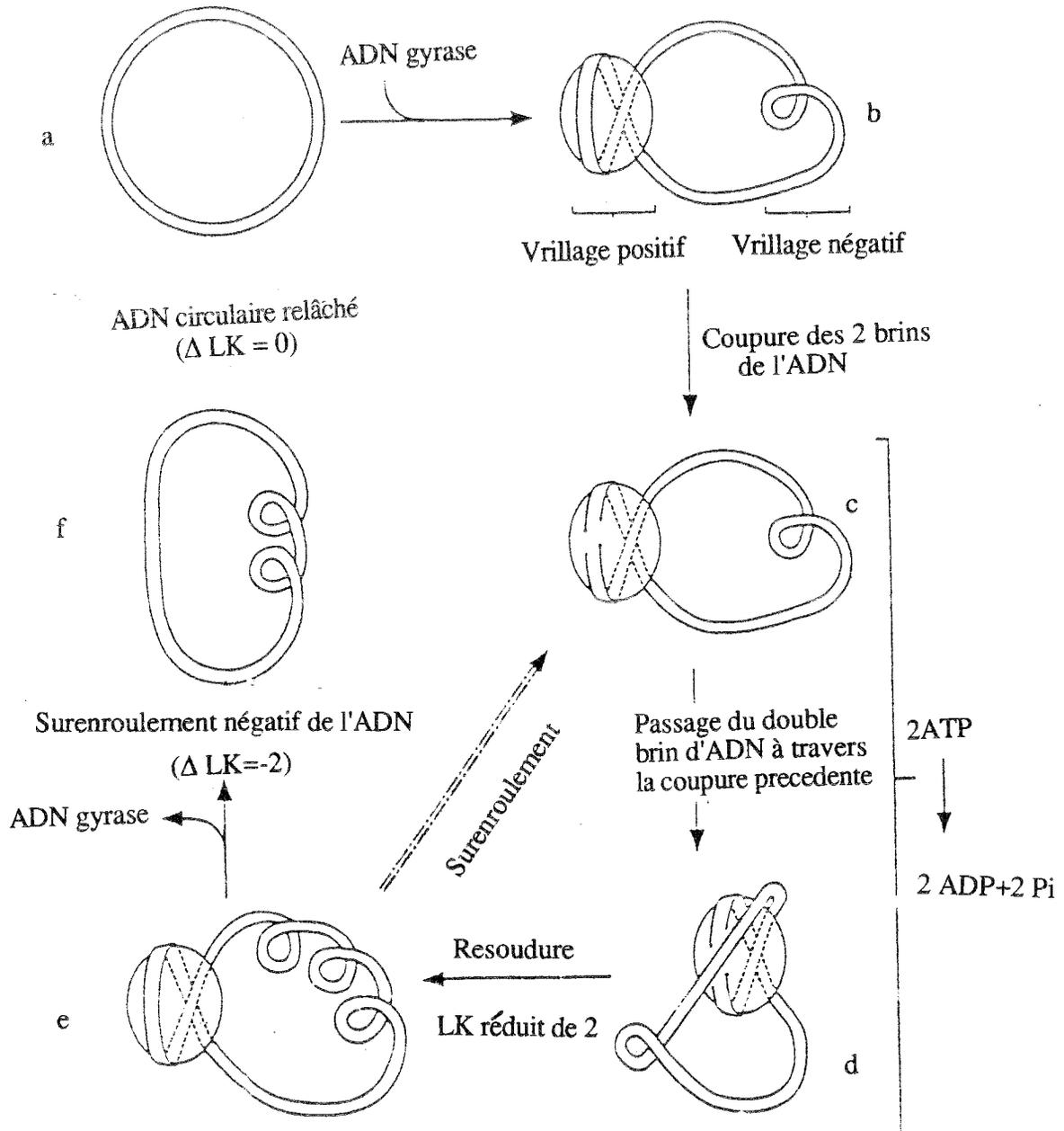


Figure 8 : Mécanisme du surenroulement négatif de l'ADN par l'ADN gyrase. D'après Reece et Maxwell (96)

Au terme de cette séquence, on obtient l'ADN surenroulé négativement, caractérisé par un degré d'enchaînement LK ("Linking number"): $\Delta LK = -2$, qu'il convient d'expliciter brièvement ci-après :

Un ADN circulaire double brin peut présenter différentes structures spatiales définies par une caractéristique topologique : LK ou "Linking number". Le degré d'enchaînement "LK" représente le nombre de fois où un brin d'ADN passe au-dessus de l'autre. Le terme LK peut alors se définir comme la somme de la torsion de l'hélice Tw ("Twist") et du vrillage Wr ("Writh") c'est-à-dire comme la déformation de l'axe de l'hélice dans l'espace:

$$LK = Tw + Wr$$

Une séquence d'ADN circulaire complètement relâché ne possède pas de vrillage ($Wr = 0$) et fait un tour d'hélice complet toutes les 10,5 pb. Le degré d'enchaînement de cet anneau (*figure 8/ état a*) est défini par LK_0 .

$$LK_0 = N / 10,5$$

(N: nombre de paires de bases de l'anneau d'ADN).

Dans ces conditions, la configuration de l'ADN finalement obtenu (*état f*) présente un surenroulement négatif dont le degré d'enchaînement (LK) est diminué de 2 unités par cycle catalytique, conformément au caractère topoisomérase de type II de l'ADN gyrase (les topoisomérases de type I modifient LK de 1 unité par cycle catalytique). Le surenroulement négatif, identifié par un degré d'enchaînement $LK < LK_0$, permet d'obtenir un gain d'énergie libre notable par rapport aux états de relâchement (LK_0) ou de surenroulement positif ($LK > LK_0$).

Par ailleurs, la coupure (*état c*) et la resoudure (*état e*) des brins est pris en charge par la sous-unité A tandis que l'hydrolyse de l'ATP, qui fournit l'énergie nécessaire au processus de surenroulement, est assurée par la sous-unité B qui porte le site de fixation de l'ATP.

En effet, l'action de la gyrase conduisant au surenroulement négatif de l'ADN correspond à l'introduction d'une double coupure (*état c*), par formation d'une liaison phosphate entre l'hydroxyle de la tyrosine-122 de la sous-unité A et l'atome de phosphore en 5' de l'ADN (115).

L'étape suivante concerne le passage du double brin dans l'ouverture produite (*figure 8/ état d*) et la reformation des liaisons phosphodiester (*état e*).

Nous rapportons, dans la *figure 9*, le modèle de Morrison et coll.(77) qui schématise ces différentes étapes du mode d'action de l'ADN gyrase et situe le site d'impact de divers inhibiteurs de cette enzyme qu'ils soient de structure quinolone (Acide nalidixique, Péfloxacine,...) ou non (Novobiocine, Coumermycine,...).

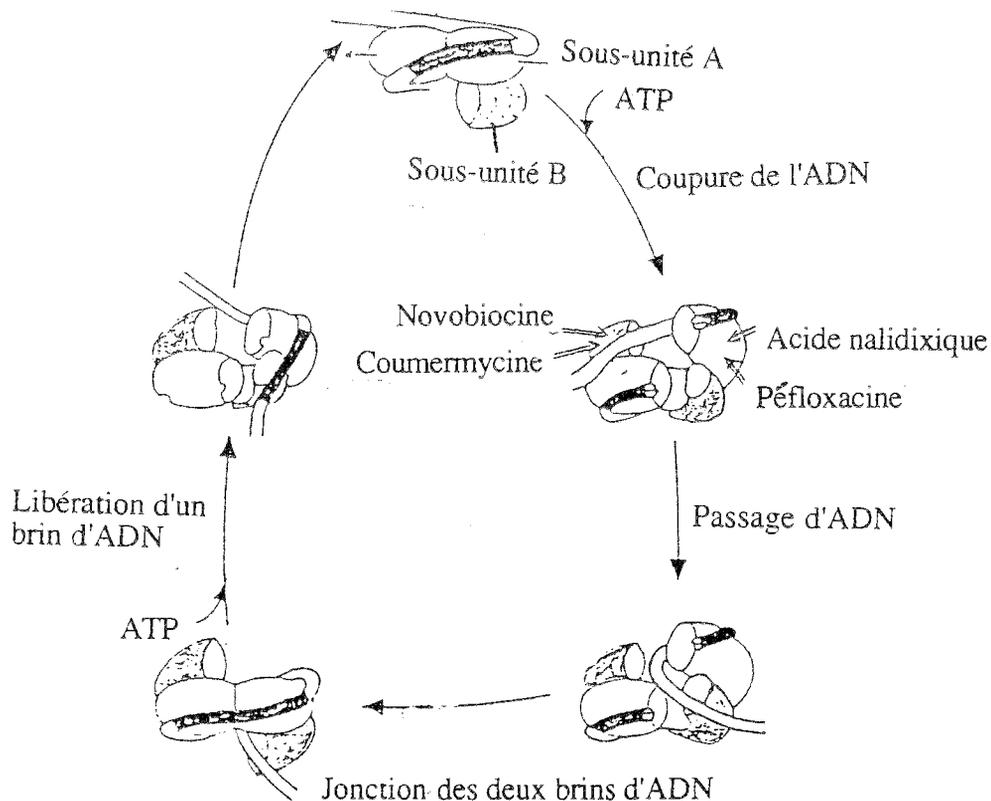


Figure 9 : Mode d'action de la gyrase . D'après Morrison et coll. (77)

La *figure 9* rend compte des étapes impliquées dans un cycle de fonctionnement de l'ADN gyrase :

- Fixation de l'ADN sur l'enzyme et surenroulement positif.
- Fixation de l'ATP induisant un changement de conformation et permettant la coupure des deux brins de l'ADN.
- Passage d'une portion d'ADN dans la coupure.
- Hydrolyse de l'ATP permettant le retour à la conformation primitive et la refermeture de l'ADN.
- Une autre ouverture-refermeture libère le brin d'ADN impliquant l'hydrolyse d'une nouvelle molécule d'ATP.(75)

1.1.4.3-Mécanisme d'action de l'ADN gyrase

L'ADN gyrase réalise le surenroulement négatif de l'ADN en permettant à un double brin d'ADN de passer au travers d'une coupure temporaire effectuée sur le double brin par l'enzyme (*figure 10a*).

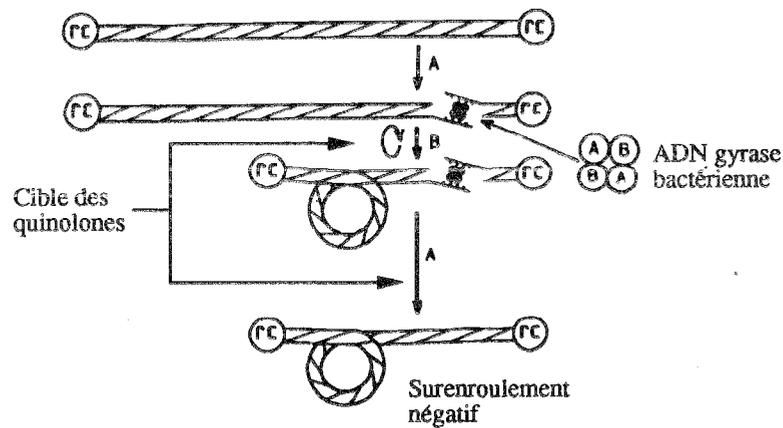


Figure 10a: Mécanisme d'action de l'ADN gyrase bactérienne (tétramère A₂B₂) réalisant le surenroulement négatif de l'ADN. D'après Smith et coll. (109)
 A: sous-unité A du tétramère.
 B: sous-unité B du tétramère.
 rc: RNA core.

La figure 10b précise le rôle de chaque sous-unité (A et B) dans le fonctionnement de l'enzyme active (A₂B₂).

-Contact A-A fermé et B-B ouvert (figure 10b-état a):

Fixation de l'ADN et coupure du double brin par ouverture A-A (état c-d).

-Contact A-A ouvert et B-B fermé (état b):

Facilite le passage du segment d'ADN par la coupure (état e).

-Retour à l'état initial:

Permet la religation des brins (état f).

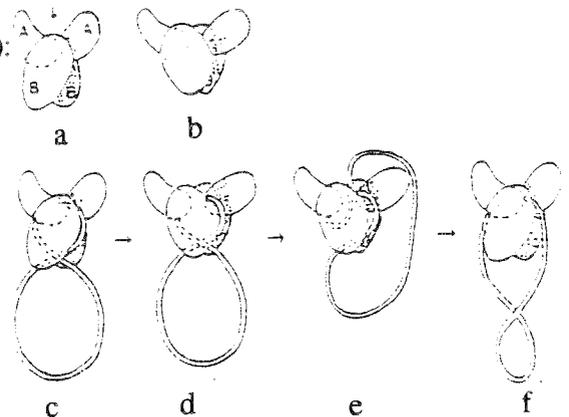


Figure 10b : Modèle de fonctionnement de l'ADN gyrase. D'après Kirchhausen et coll. (61)

Après avoir rappelé le rôle déterminant de l'ADN gyrase dans le processus vital des bactéries, on conçoit aisément que la recherche d'inhibiteurs de cette enzyme constitue, depuis 30 ans, une piste originale d'accès à de nouveaux antibiotiques.

1.2-INHIBITEURS DE L'ADN GYRASE

1.2.1-Inhibiteurs de type quinolone

1.2.1.1-Généralités: Les 2 générations de quinolones

Avec l'Acide nalidixique naît, en 1962, la famille des quinolones (65) dont ce premier représentant révèle une remarquable activité antibiotique sur les bactéries à Gram-négatif. L'introduction en thérapeutique de cet antibiominimétique, sous le nom de Negram® pour le traitement des infections urinaires basses, traduit cette spécificité du spectre antibactérien (25).

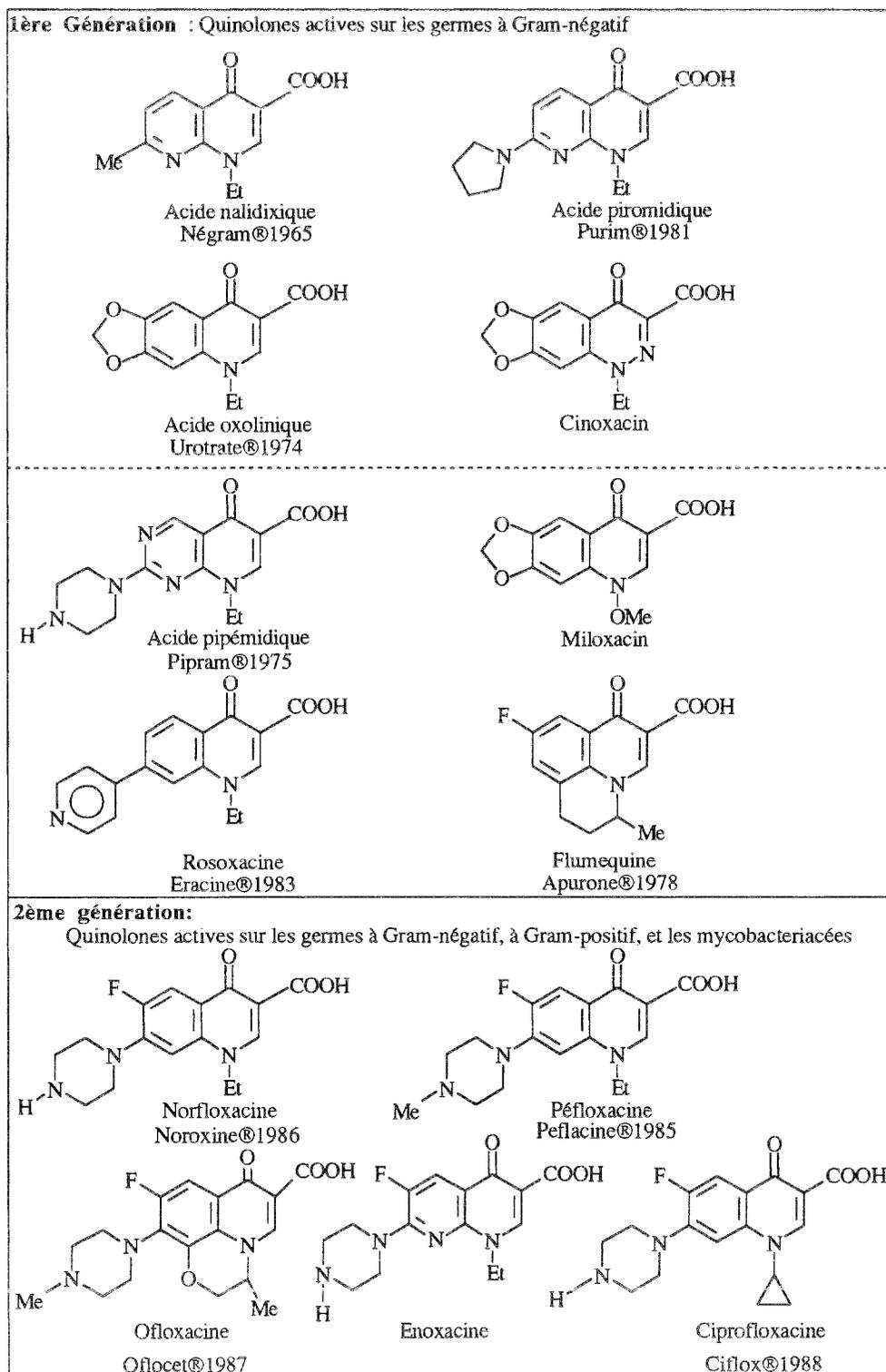
Les recherches ultérieures ont eu pour objectif :

-d'une part, d'exalter le pouvoir antibactérien (la CMI à l'égard des entérobactéries est abaissée en moyenne de 100 à 250 fois, notamment pour les deux plus récents dérivés introduits en thérapeutique: Ofloxacin et Ciprofloxacine) et d'en élargir le spectre d'action aux germes à Gram-positif, à certaines bactéries à développement intracellulaire.....

-d'autre part, d'améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques (biodisponibilité, distribution tissulaire.....) conférant aux quinolones récentes un profil systémique.

L'étendue du spectre antimicrobien et la nature fluorée ou non du squelette permet de diviser chronologiquement les quinolones en deux générations, (*Tableau II*) sous la dénomination commune internationale (acide en préfixe pour les quinolones de 1^{ère} génération, et oxacine en suffixe pour celles de 2^{ème} génération), nous avons fait figurer la dénomination de marque française et l'année de "mise sur le marché" thérapeutique (A.M.M).

Tableau II: Classification des quinolones.



L'analyse de ce tableau appelle les commentaires suivants:

1ère génération:

Elle rassemble les molécules non fluorées (seule, la Flumequine ou Apurone® fait exception à cette règle), actives sur les germes à Gram-négatif incluant ou non le bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*). Très schématiquement, il est possible de distinguer suivant la décennie d'introduction en thérapeutique deux sous-groupes:

- ◆ 1965-1975: Acide nalidixique et analogues, actifs sur les germes à Gram-négatif, sauf *Pseudomonas aeruginosa*.

- ◆ 1975-1985: Acide pipémidique et analogues, actifs sur les germes à Gram-négatif y compris *Pseudomonas aeruginosa*. Cette dernière activité étant toutefois insuffisante (CMI:4-16 mg/l) pour être utilisable efficacement en thérapeutique.

Le spectre antibactérien étroit de ces dérivés (CMI/ entérobactéries : 4-128 mg/l) positionne clairement cette 1ère génération dans l'arsenal thérapeutique des infections uro-génitales. Soulignons cependant le cas particulier de la Rosoxacine (Eracine® réservé à l'usage hospitalier) particulièrement active sur *Neisseria gonorrhoeae* (CMI: 0,5 mg/l) et, de ce fait, utilisée dans le traitement minute de l'urétrite gonococcique.

2ème génération:

Connues depuis 1985, les fluoroquinolones se caractérisent, à la fois par une activité bactéricide plus rapide et plus puissante et par un spectre antibactérien considérablement élargi affectant :

- ◆ Les germes à Gram-négatif, (CMI de l'ordre de 1 mg/l) incluant des bacilles: entérobactéries même devenues résistantes à l'acide nalidixique, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et des Cocci : *Neisseria*.

- ◆ Les germes à Gram-positif, notamment *Staphylococcus aureus* et *epidermis* y compris ceux résistants à la Méthicilline et à la Gentamicine alors que les streptocoques A et B, les entérocoques et les anaérobies stricts sont inconstamment sensibles à leur action.

- ◆ Les germes à développement intracellulaire et d'émergence récente (*Legionella*, *Chlamydia*, *Ureoplasma*, *Mycoplasma*) les bacilles acido-alcool résistants : *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium leprae*.

Ces nouvelles quinolones bénéficient de plus (102) :

- d'une bonne absorption digestive autorisant une antibiothérapie par voie orale, ce qui est particulièrement nouveau et intéressant dans le champ d'utilisation de ces anti-infectieux.
- d'une exceptionnelle distribution tissulaire qui permet le traitement d'infections pulmonaires, O.R.L., cutanées, osseuses, etc... Le *Tableau III* précise le niveau de diffusion tissulaire de l'Ofloxacin pour laquelle:

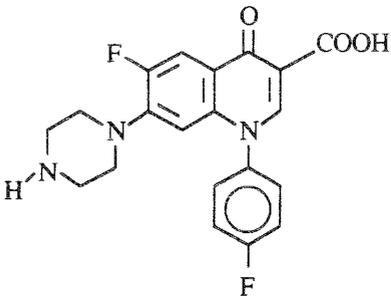
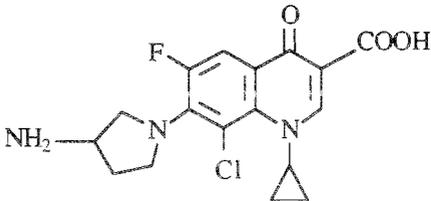
Concentration tissulaire > Concentration sérique > CMI des germes pathogènes

Tableau III: Rapport (R) de concentration tissulaire/ concentration sérique en Ofloxacin (Oflocet®)

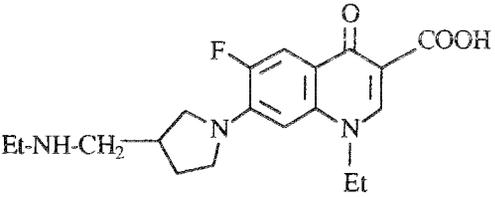
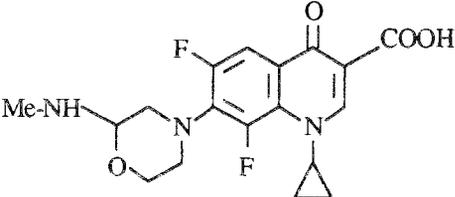
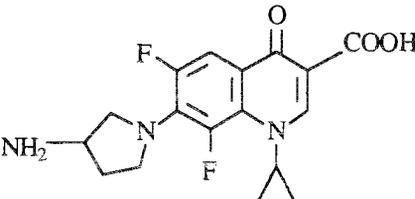
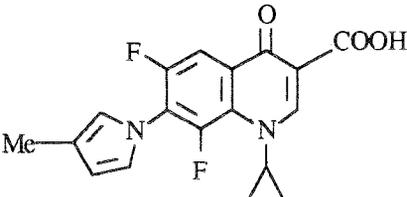
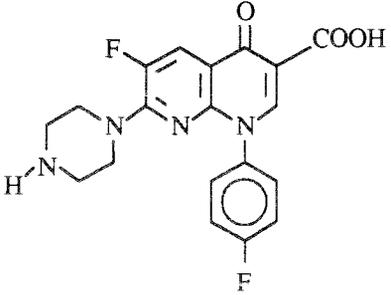
Organe -cible	Rein	Parenchyme pulmonaire	Sphère O.R.L.	Peau	Prostate	Os
R	4,6	4	2,5	2,4	2	1,5

Compte-tenu de leur intérêt en clinique, les quinolones font l'objet de nombreux travaux ainsi qu'en témoigne le *tableau IV* qui précise quelques noms de groupes pharmaceutiques participant à cette recherche.

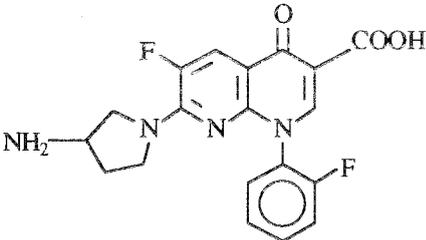
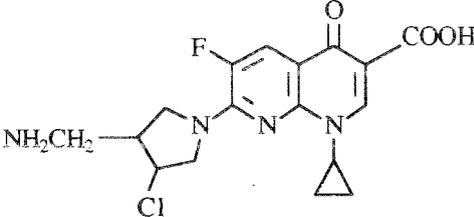
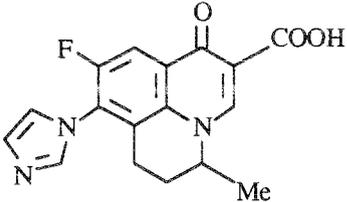
Tableau IV: Orientation des recherches actuelles

Formule	Numéro de code	Laboratoire
A) Série quinoléine*		
	A-56620	Abbott
	AM-1091 PD-127390	Kyorin Pharm.co

Suite du tableau IV: Orientation des recherches actuelles

Formule	Numéro de code	Laboratoire
	CI-934	Warner-Lambert Parke-Davis
	Y-25024	Yoshitomi
	PD-117,596	Warner-Lambert
	PD-117,596,2	Warner-Lambert
<u>B) Série 1,8-naphtyridine*</u>		
	A-57132	Abbott

Suite du tableau IV: Orientation des recherches actuelles

Formule	Numéro de code	Laboratoire
	A-60969	Abbott
	AT-3765	Dainippon
<u>C) Série benzoquinolizine*</u>		
	S-25932	Riker

(*) Ces dénominations usuelles ne prennent en compte ni l'hydrogénation partielle du cycle, ni ses substitutions.

Cette intense activité de recherche permettra dans les cinq prochaines années de mettre sur le marché plusieurs difluoroquinolones (*figure 11*) dont les dénominations communes internationales sont connues et la phase de développement pratiquement arrivée à son terme.

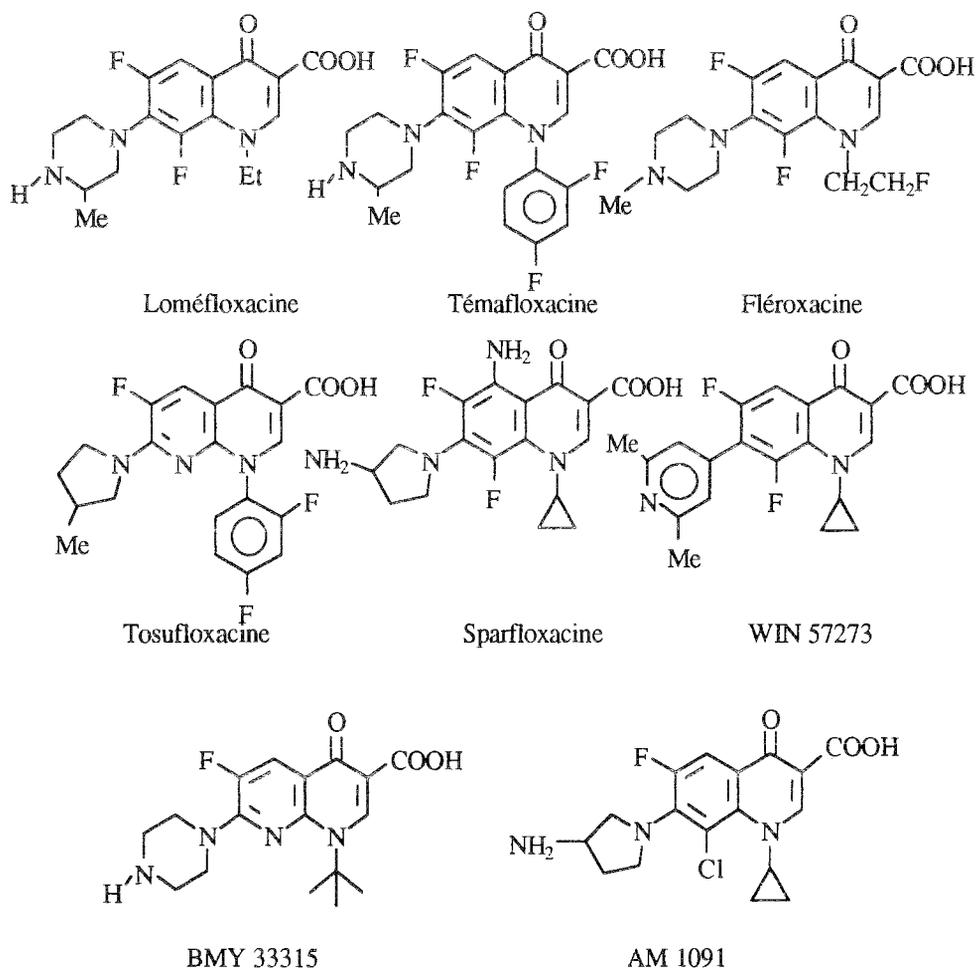


Figure 11: Polyhalogénoquinolones en développement

Une étude des relations " Structure chimique-Activité biologique" permet, selon le nombre de cycles engagés dans la structure "quinolone", de distinguer les dérivés polycycliques et les composés monocycliques.

1.2.1.11-Quinolones polycycliques

Le noyau commun à toutes les quinolones est du type 4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique, condensé ou non avec un ou deux cycles hexa-atomiques.

1.2.1.111-Quinolones bicycliques

La grande majorité des quinolones introduites en thérapeutique est de type bicyclique et résulte de l'ortho-condensation du motif (A) précédemment défini avec un noyau (B) aromatique : benzénique (a), pyridinique (b) ou pyrimidique (c).

- (a) quinolone (Norfloxacin, Péfloxacin,.....)
- (b) 8-azaquinolone (Acide nalidixique, Enoxacin, Tosufloxacin,.....)
- (c) 6,8-diazaquinolone (Acide pipémidique,.....)

Cette famille de quinolones est généralement substituée en position 6 par un atome de fluor et sur l'atome de carbone 7 par un hétérocycle azoté penta- ou hexa-atomique.

1.2.1.112-Quinolones tricycliques

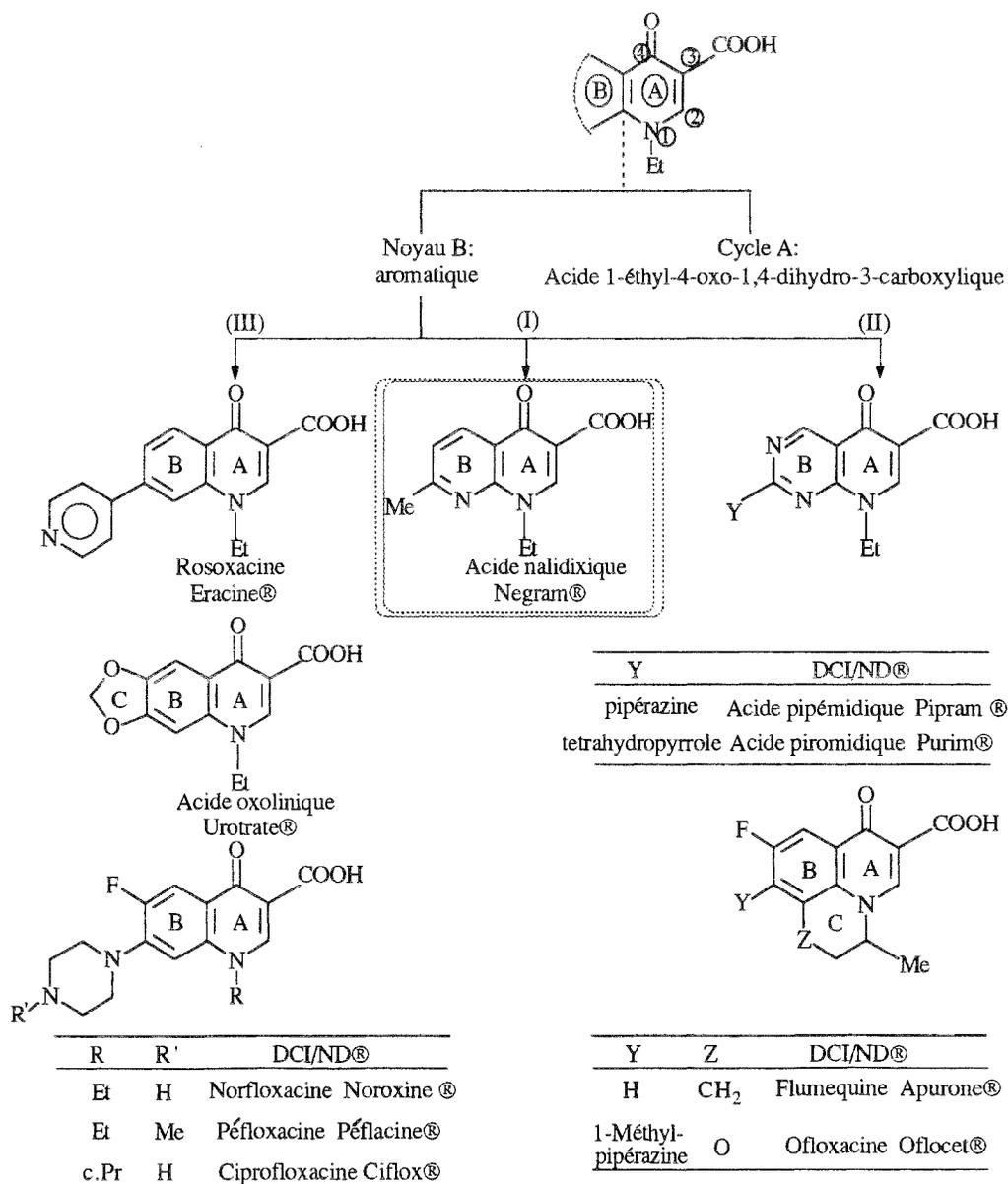
La construction d'un troisième cycle a été réalisée :

-soit par formation d'un pont 6,7-dioxométhylène: ce sont des composés relativement anciens (Acide oxolinique, Cinoxacin), actifs sur les seuls germes à Gram-négatif.

-soit par formation d'un pont "diméthylène" (Fluméquine) ou d'un groupement isostère du type 8-oxométhylène (Ofloxacin) entre le C-8 du noyau quinoléique et le premier atome de carbone du substituant N-éthyle. Cette dernière pharmacomolécule est chirale et son énantiomère (S) est 10 à 100 fois plus actif que l'antipode optique (R) (55). Précisons cependant, qu'en règle générale, la stéréoisomérisation optique n'a de signification thérapeutique que lorsque le centre chiral est situé à proximité de l'azote nucléaire du cycle A.

Le *tableau V* précise la pharmacomodulation du cycle B (remplacement isostérique du noyau pyridinique (I) par un cycle pyrimidinique(II) ou benzénique (III) et l'adjonction du cycle C).

Tableau V: Cycles B isostères en série quinolone



1.2.1.12-Quinolones monocycliques

Compte-tenu de la présence, dans ces composés, du noyau 4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique, motif squelettal caractéristique des quinolones bi- et tricycliques et par analogie avec la dénomination de monobactame donnée aux analogues monocycliques des β -lactamines (Penicillines et Céphalosporines), nous proposons dans la suite de ce mémoire, de désigner sous le nom générique de “monoquinolone”, les dérivés de structure acide 4-pyridone-3-carboxylique.

Cette nouvelle orientation a récemment été développée par Narita et coll. (38, 80-83) qui ont montré les intéressantes potentialités antibactériennes des composés **A** à **K** présentés dans la *figure 12*.

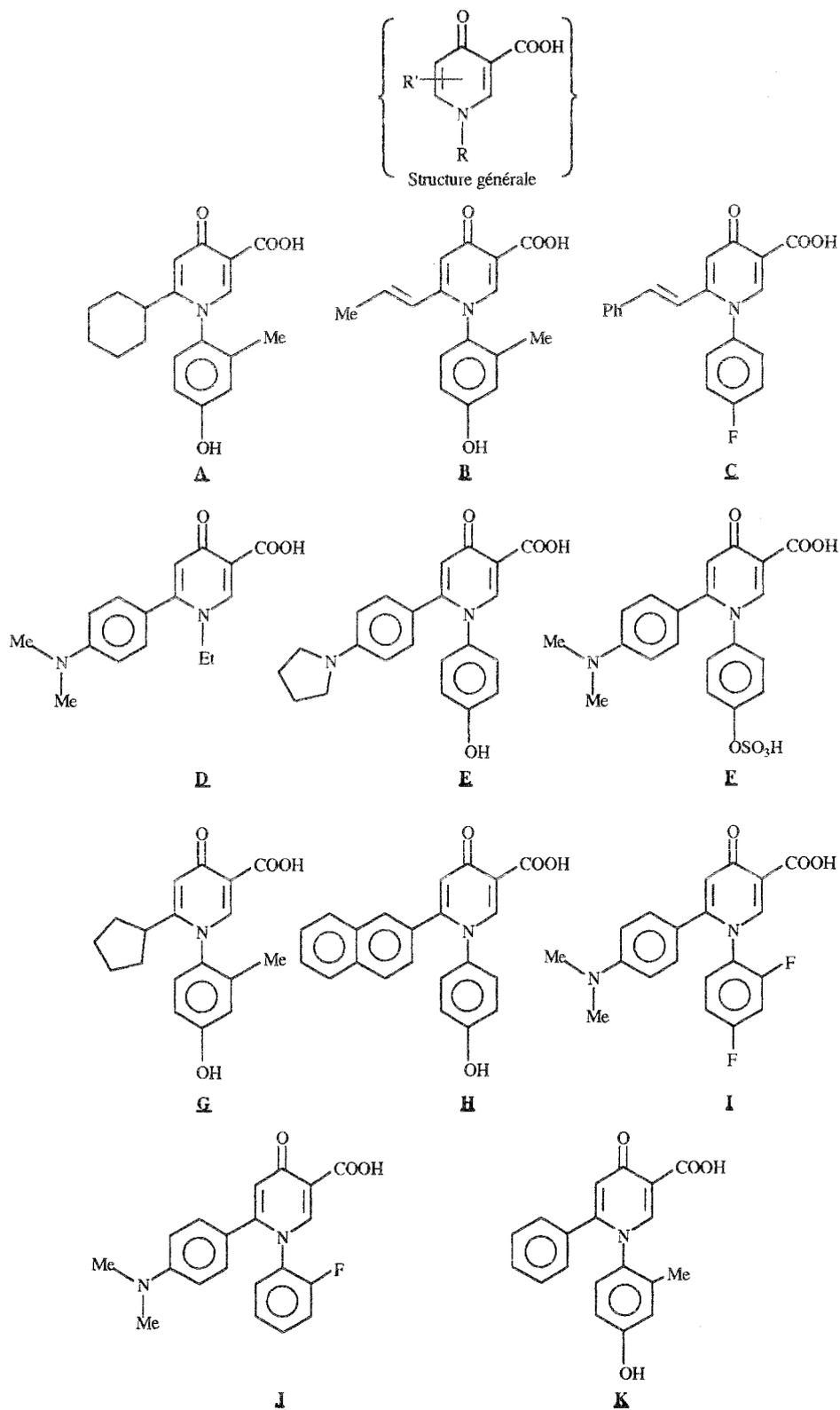


Figure 12 : Structure de quelques "monoquinolones" synthétisées par Narita et coll. (80-83)

1.2.1.2-Activité antibactérienne des quinolones

1.2-1-21-Spectre antibactérien

Les *tableaux VI à VIII* rassemblent les concentrations minimales inhibitrices (CMI) déterminées *in vitro* de quelques quinolones à l'égard de divers germes à Gram-négatif et Gram-positif.

En ce qui concerne les quinolones polycycliques, nous en indiquons, dans le *tableau VI*, le pouvoir antibactérien à l'égard de souches variées:

Tableau VI: Activité *in vitro* (CMI mg/l) de quelques quinolones polycycliques (13,75,90,91,129)

	Acide nalidixique	Acide oxalinique	Acide pipémidique	Cin-oxacine	Péfl-oxacine	Ofi-oxacine	Norfl-oxacine	Ciprofl-oxacine
<i>Escherichia coli</i>	2-8	2-4	4-16	2-4	0,1	0,1	0,06	0,05
<i>Proteus vulgaris</i>	6-25	0,25	0,5-1	4	0,2	0,1	0,5	-
<i>Serratia marcescens</i>	12-200	0,25	8	4-16	0,2-1	0,4-6	0,25	0,25
<i>Citrobacter spp.</i>	4-8	0,5	-	2-4	0,1-2	0,1-1	0,4	0,12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6-200	0,5	2	4	0,2-2	0,2	0,25	0,13
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	0,5	4	4-8	0,1-1	1,2	0,25	0,06
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	8-32	4-16	128	1-2	0,8-3	1,5	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	50-100	2	16-24	64-128	0,5	0,4	0,8	0,06
<i>Streptococcus faecalis</i>	200	32	100	128	0,5	0,8-1,5	1-2	1

Il est possible de dégager les points suivants :

-Parmi les quinolones de **1ère génération**, l'Acide nalidixique apparaît comme l'agent antibactérien le moins actif à l'égard des germes à Gram-négatif habituels (*E.coli*,...) et d'une inactivité totale à l'égard du bacille pyocyanique. Comme tous les dérivés de cette génération, cet archétype des quinolones est inactif à l'égard des souches bactériennes à Gram-positif (*S.aureus*, *S.faecalis*). Les analogues de l'acide nalidixique (Acides oxolinique et pipémidique) présentent un spectre superposable à celui du modèle, en bénéficiant toutefois d'une puissance antibiotique en moyenne 10 fois supérieure à celle du premier terme.

-Les quinolones de **2ème génération**, dont la Dénomination Commune Internationale (D.C.I.) est caractérisée par le suffixe "oxacine", sont globalement 20 à 50 fois plus actives que les dérivés de 1ère génération à l'égard des germes à Gram-négatif (12).Elles se caractérisent aussi par un spectre étendu à l'égard des bactéries à

Gram-positif, aux germes intracellulaires (*Legionella*, *Mycoplasma*,...), aux bacilles acido-alcoolo-résistants (*Mycobacterium*).

Les "monoquinolones" manifestent une activité antimicrobienne intermédiaire entre celle des quinolones polycycliques de 1ère et de 2ème génération ainsi qu'il apparaît dans le *tableau VII* (la structure des composés **A-K** est précisée dans la *figure 12 - p.27*).

Tableau VII: Activité *in vitro* (CMI mg/l) de quelques "monoquinolones".(80)

	A	B	C	E	F	G	H	I	J	K
1	0.78	6.25	3.13	0.2	0.78	0.78	≤0.05	0.2	1.56	0.2
2	0.78	12.5	3.13	0.1	3.13	0.39	≤0.05	0.1	1.56	0.2
3	1.56	3.13	3.13	0.39	1.56	0.78	0.2	0.78	1.56	0.2
4	0.78	1.56	1.56	0.2	0.78	0.39	≤0.05	0.2	0.78	0.1
5	3.13	3.13	12.5	0.78	6.25	1.56	0.39	3.13	3.13	0.39
6	0,1	0,39	0,39	≤0,05	0,2	0,2	≤0,05	0,1	0,39	≤0,05
7	1.56	1.56	6.25	0.78	3.13	0.78	0.39	0.78	3.13	0.1
8	6.25	12.5	12.5	1.56	25	3.13	1.56	6.25	6.25	0.78
9	12.5	25	25	3.13	25	6.25	1.56	6.25	25	1.56
10	0.2	0.39	0.78	0.2	1.56	≤0.5	0.1	0.2	0.78	≤0.05
11	3.13	1.56	3.13	0.78	3.13	0.78	0.39	0.78	3.13	0.2
12	6.25	3.13	12.5	1.56	12.5	3.13	0.39	3.13	6.25	0.39
13	12.5	25	12.5	1.56	25	3.13	0.78	3.13	25	0.78
14	50	25	50	6.25	50	12.5	6.25	12.5	>100	6.25
15	50	12.5	25	3.13	25	12.5	1.56	12.5	25	3.13
16	3.13	6.25	50	1.56	12.5	3.13	6.25	12.5	>100	1.56
17	>100	25	25	3.13	50	25	3.13	25	>100	12.5
18	3.13	6.25	12.5	0.78	12.5	1.56	0.39	3.13	6.25	0.39
19	0.78	6.25	1.56	≤0.05	3.13	0.78	0.2	0.39	1.56	0.78

- | | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| 1- <i>S.aureus</i> FDA209P | 10- <i>P.vulgaris</i> GN3027 |
| 2- <i>S.aureus</i> F-137 | 11- <i>P.vulgaris</i> GN76 |
| 3- <i>E.coli</i> NIHJ JC-2 | 12- <i>P.morganii</i> T-216 |
| 4- <i>E.coli</i> TK-111 | 13- <i>P.mirabilis</i> T-111 |
| 5- <i>E.coli</i> TK-3 | 14- <i>P.aeruginosa</i> IFO3445 |
| 6- <i>E.coli</i> GN5482 | 15- <i>P.aeruginosa</i> S-68 |
| 7- <i>K.pneumoniae</i> Y-50 | 16- <i>P.aeruginosa</i> GN918 |
| 8- <i>K.pneumoniae</i> Y-41 | 17- <i>P.aeruginosa</i> GN3379 |
| 9- <i>K.pneumoniae</i> Y-4 | 18- <i>E.cloacae</i> IID977 |
| | 19- <i>A.antitratus</i> A-6 |

Il convient de noter que les composés **E,H** et **K** font exception à cette règle en se situant au niveau des fluoroquinolones les plus performantes.

Le *tableau VIII* permet de comparer, sur une même batterie de germes, le niveau d'activité de l'acide 1-éthyl-4-oxo-6-p.N,N-diméthylaminophénylpyridine-3-carboxylique (composé **D**) avec l'Acide nalidixique par rapport auquel il n'apporte aucun avantage notable.

Tableau VIII : Activité *in vitro* du produit **D** / Acide nalidixique.(44)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
D	6,3	>100	25	50	50	25	25	25	25	50	50
Acide nalidixique	6,3	>100	12,5	6,3	12,5	6,3	3,1	6,3	3,1	>100	100

1- *Escherichia coli* ATCC259222- *Escherichia coli* UB10053- *Klebsiella pneumoniae* ATCC277364- *Enterobacter cloacae* ATCC130475- *Proteus mirabilis* 21176- *Proteus vulgaris* NCTC83137- *Providencia rettgeri* 9698- *Morganella morganii* 61379- *Serratia marcescens* 803-1510- *Pseudomonas aeruginosa* BA11- *Staphylococcus aureus* ATCC25923

1.2.1.22-Relations "structure-activité"

♦ Les relations structure-activité des quinolones polycycliques qui ont été initialement proposées par Albrecht (4) puis développées par Dreyfuss (35), sont fondées sur la présence d'un :

- cycle A, indispensable pour la manifestation de l'activité antimicrobienne.
- cycle B, de nature aromatique, ortho ou ortho et péricondensé avec le noyau A.

L'analyse fonctionnelle de cet archétype permet de préciser les points suivants:

Azote-1 : l'activité antibactérienne maximale est obtenue chez les quinolones N-substituées par un groupement éthyle dont la longueur (0,42 nm) et la taille, selon le programme QSAR Stérimol, étaient idéaux.

La découverte de quinolones particulièrement actives comme la Difloxaciné, porteuse d'un substituant phényle (donneur d'électrons π), a démontré que des facteurs électroniques pouvaient, en plus du concept de l'encombrement stérique, influencer l'activité biologique. Le noyau cyclopropyle, qui est le groupement le moins encombrant et le plus électron-donneur, est présent dans la Ciprofloxacine: ce composé est l'agent antibactérien le plus puissamment actif sur *Pseudomonas* et *Enterobacter* (cf. Tableau VI-p.28)

Carbone-2 : l'activité des quinolones substituées en C-2 par un groupement quelconque est considérablement amoindrie. Tout remplacement de l'atome d'hydrogène lié au C-2 par un autre groupement diminue l'activité antibactérienne, à l'exception du KB-5246 (Kanebo) qui présente un cycle thiazole entre les positions-1 et -2.

Carbone-3 : l'activité maximale est obtenue par un groupement acide carboxylique. Toute fonctionnalisation de ce groupement en dérivés de type ester (COOR'), amide (CONHR'), nitrile (CN) ou son remplacement par un groupement amino (NH₂), nitro (NO₂) annule cette activité. Il en est de même du remplacement de cette fonction carboxyle par des groupements d'acidité comparable 5-méthyltétrazolyle (présent dans de nombreuses céphalosporines : Cefatetan, Cefménoxine,.....), sulfonique (présent dans l'Aztreonam) ou phosphonique (Phosphomycine)

Carbone-4 : présence d'une fonction cétonique dont les doublets électroniques libres de l'atome d'oxygène autorisent la formation de liaison hydrogène avec l'ADN. Ce groupement carbonyle doit, en fait, être considéré dans son environnement régio-spécifique "acide β -cétonique", ce qui explique sa mise en cause dans la formation de complexes 2.1 ou 1.1 "quinolone-ion métallique divalent" [théorie physico-chimique du mécanisme d'action des quinolones de Crumplin et coll. (23), développée notamment dans notre laboratoire (98)]. Dès lors, on comprend que toute modification du groupement 4-oxo engendre une perte d'activité antimicrobienne.

Carbone-5 : la présence, en cette position, d'un atome d'hydrogène crée une activité antibactérienne maximale. La substitution de cet atome par un groupement halogéné ou alcoylé est, par conséquent, à éviter.

Carbone-6 : un atome de fluor, fixé au carbone nucléaire 6, accroît considérablement l'activité antibactérienne des quinolones de 1ère génération et constitue la spécificité des quinolones de 2ème génération, appelées pour cette raison "fluoroquinolones" (56,130). La substitution par un atome de chlore est également favorable à une activité antibactérienne, mais à un degré moindre.

Carbone-7 : les quinolones, substituées en 7 par des restes de faible taille ou de nature aliphatique (H, Cl, Me, NHMe ou NHCH₂CH₂NH₂), manifestent une activité antibactérienne faible ou modérée. Par contre, des substituants hétérocycliques azotés du type pipérazin-1-yl (Norfloxacin, Ciprofloxacine, BMY 33315,.....), 4-méthylpipérazin-1-yl (Péfloxacin, Ofloxacine,), pyrrolidin-1-yl (Acide piromidique), 3-aminopyrrolidin-1-yl (BMY 40868) et 1-pyridyl (Rosoxacin) créent un exceptionnel niveau d'activité (cf. *Tableau VI-p. 28*). La présence de ce deuxième pôle azoté confère à ces pharmacomolécules un caractère amphotère "basique", ce qui explique l'existence de 2 constantes d'acidité [ex : Ciprofloxacine: $pK_{a1}=6,0$ (carboxyle) et $pK_{a2} = 8,8$ (piperazinyl)], leur commercialisation sous forme de sel (chlorhydrate de Ciprofloxacine: Ciflox®) et l'abandon du préfixe "acide" pour leur dénomination (qui utilise le segment clef "oxacin" en suffixe).(19)

Carbone-8 : Ce sommet n'est généralement pas substitué dans les quinolones bicycliques actuellement commercialisées alors que certaines molécules en développement portent, à ce niveau, un atome de fluor ou de chlore qui améliore très nettement leur absorption orale sans diminuer trop notablement leur activité bactéricide.

Dans les quinolones tricycliques, ce sommet participe à la constitution du "troisième" cycle de nature pipéridinyle (Apurone®) ou perhydro-1,4-oxazinyle (Ofloxacine®), qui confère à ces deux quinolones, une remarquable activité antibactérienne.

♦ Les quinolones monocycliques font l'objet de travaux de recherche depuis trop peu de temps et les molécules synthétisées sont en nombre trop limité pour que puisse être dégagée une relation "Structure-activité" présentant une fiabilité suffisante. Dans ce contexte, nous souhaitons néanmoins apporter quelques orientations sur les pharmacomodulations favorables :

Azote-1 : l'activité antibactérienne maximale est obtenue pour un substituant phényl mono- ou disubstitué par F, Cl, Me, OH, OSO₃H, Contrairement aux oxacines traditionnelles, le groupement éthyle (produit **D**; *figure 12*) diminue l'activité antibactérienne et situe ces composés au niveau de l'acide nalidixique (*Tableau VIII-p. 30*) (**44**).

Carbone-2 : absence de substitution comme pour les quinolones polycycliques. Toute substitution de ce sommet altère l'activité antibactérienne.

Carbone-3 : présence indispensable d'un groupement acide carboxylique.

Carbone-4 : présence d'une fonction cétone.

Carbone-5 : cette position ne doit pas être substituée, en effet, sa fonctionnalisation par un reste alcoyle diminue l'activité antibactérienne. Le produit de substitution bromé (**41**), que nous avons synthétisé, n'a malheureusement révélé aucune activité antibactérienne. (cf. § résultats biologiques p. 215).

Carbone-6 : les "monoquinolones" porteuses de substituants de faible taille (Me), ou de caractère allylique [-CH=CH-C(=CHSCHCH-),...(**33,34**)] ou énamine [-CH=CH-NMe₂, -CH=CH-NH (2,4-Cl₂ Ph) (cf. partie expérimentale)], n'ont qu'une activité antibactérienne faible ou modérée. Par contre, lorsque le substituant est du type [-CH=CH-Me(**B**)], ou [-CH=CH-Ph(**C**)], on observe une amélioration sensible de l'activité antibactérienne (cf. *Tableau VII - p. 29*).

Les substituants les plus favorables sont de type aromatique et électron-donneur [phényl(**K**), 4-Me₂N Ph (**E, I, J**),...], naphtyl (**H**),.....], ils créent une activité antibactérienne comparable voire supérieure à celle des fluoroquinolones. Par contre, les substituants cycloalcoyles: cyclohexyle (produit **A**), cyclopentyle (**G**) engendrent une activité antibactérienne modérée, (cf. *Tableau VII - p. 29*).

L'hydrogénation de la double liaison C-5 - C-6 conduit à des dérivés le plus souvent moins actifs que les "authentiques" "monoquinolones".

1.2.1.3-Mécanisme d'action des quinolones

1.2.1.31-Effets des quinolones sur la cellule bactérienne

1.2.1.311-Effets sur la morphologie bactérienne

Les deux principaux événements morphologiques induits par les quinolones sont la filamentation cellulaire et la formation de vacuoles (31,37) . Un synoptique de l'effet des quinolones sur la cellule bactérienne est présenté dans la *figure 13* (30).

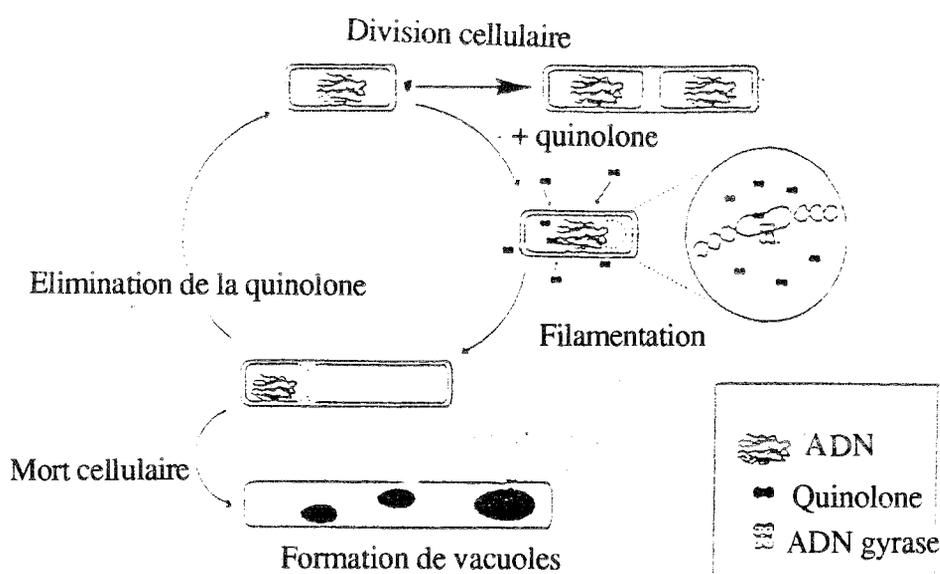


Figure 13: Etats morphologiques induits par les 4-quinolones. D'après Diver (30)

Les changements morphologiques observés dépendent essentiellement de la concentration en quinolones (31). Par exemple, aux concentrations de Ciprofloxacine ci-après indiquées :

- ◆ 0,006 mg/l : on observe une filamentation importante.
- ◆ 2 mg/l : on note un allongement des cellules de 5 fois leur taille sans filamentation.
- ◆ 128 mg/l : il n'y a pas d'élongation mais les cellules prennent une forme ovoïde et élargie.

1.2.1.312- Effet bactéricide des quinolones

L'effet bactéricide des quinolones, apprécié par le pourcentage de populations survivantes après 3 heures d'incubation en présence de ces antibiotiques, est de type biphasique. Cette réponse biphasique peut être illustrée (figure 14) par une courbe d'allure parabolique dont le minimum (B) correspond à la concentration minimale bactéricide (CMB).

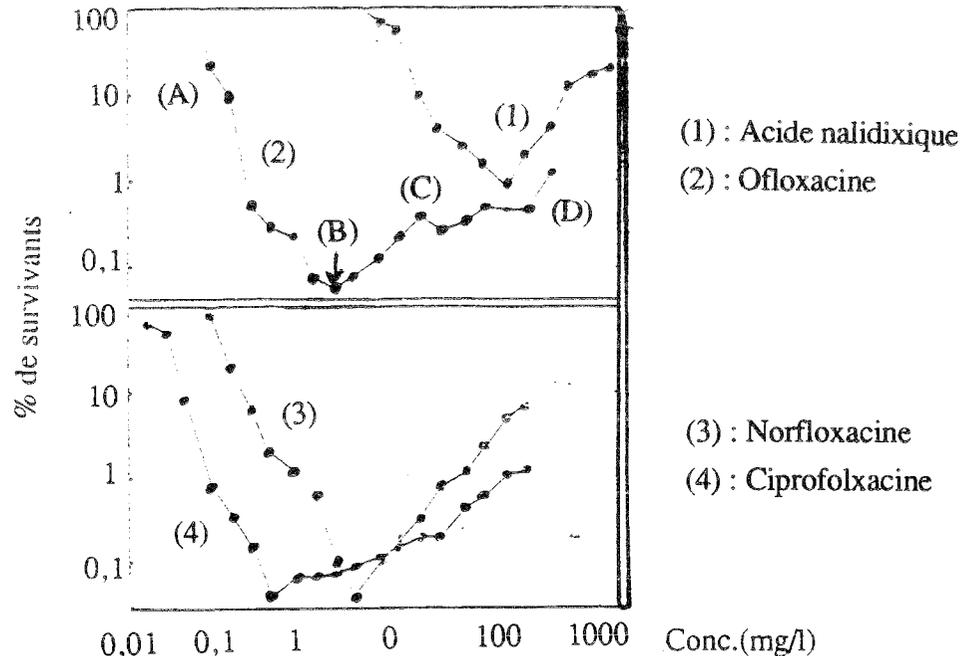


Figure 14: Réponse biphasique de *E. coli* à différentes concentrations en quinolone . D'après Smith (109)

Dans la première phase (A-B), l'effet bactéricide des composés augmente progressivement jusqu'à atteindre la CMB. La CMB est 100 à 1000 fois plus faible pour la Ciprofolxacine, la Norfloxacin et l'Ofloxacin que pour l'Acide nalidixique. De même, pour ces fluoroquinolones, le pourcentage de survivants au point (B) d'inflexion (CMB) est diminué d'un facteur 10 par rapport à la quinolone de 1ère génération.

Cette phase correspond à l'inhibition progressive de la synthèse de l'ADN par les quinolones.

Dans la deuxième phase (B-C), la bactéricidie diminue pour atteindre un palier (D) correspondant à l'effet bactériostatique. L'action bactériostatique a lieu aussi bien sur des bactéries en phase de croissance que sur des bactéries quiescentes et la concentration minimale bactéricide est proche de la CMI. Ces effets dépendent non seulement de la nature de la quinolone mais aussi de la concentration. Ainsi, l'Acide nalidixique et l'Acide oxolinique, aux concentrations inférieures à 100 mg/l, sont bactéricides. A des concentrations supérieures, leur effet n'est plus que

progressivement bactériostatique pour certaines espèces bactériennes ce qui proviendrait d'une inhibition des synthèses d'ARN et de protéines.(71).

L'activité bactéricide des quinolones est un processus actif. En effet, l'inhibition de la synthèse d'ARN par la Rifampicine et celle des protéines par le Chloramphénicol antagonise leur action bactéricide (figure 15) (23,40,101,108,128).

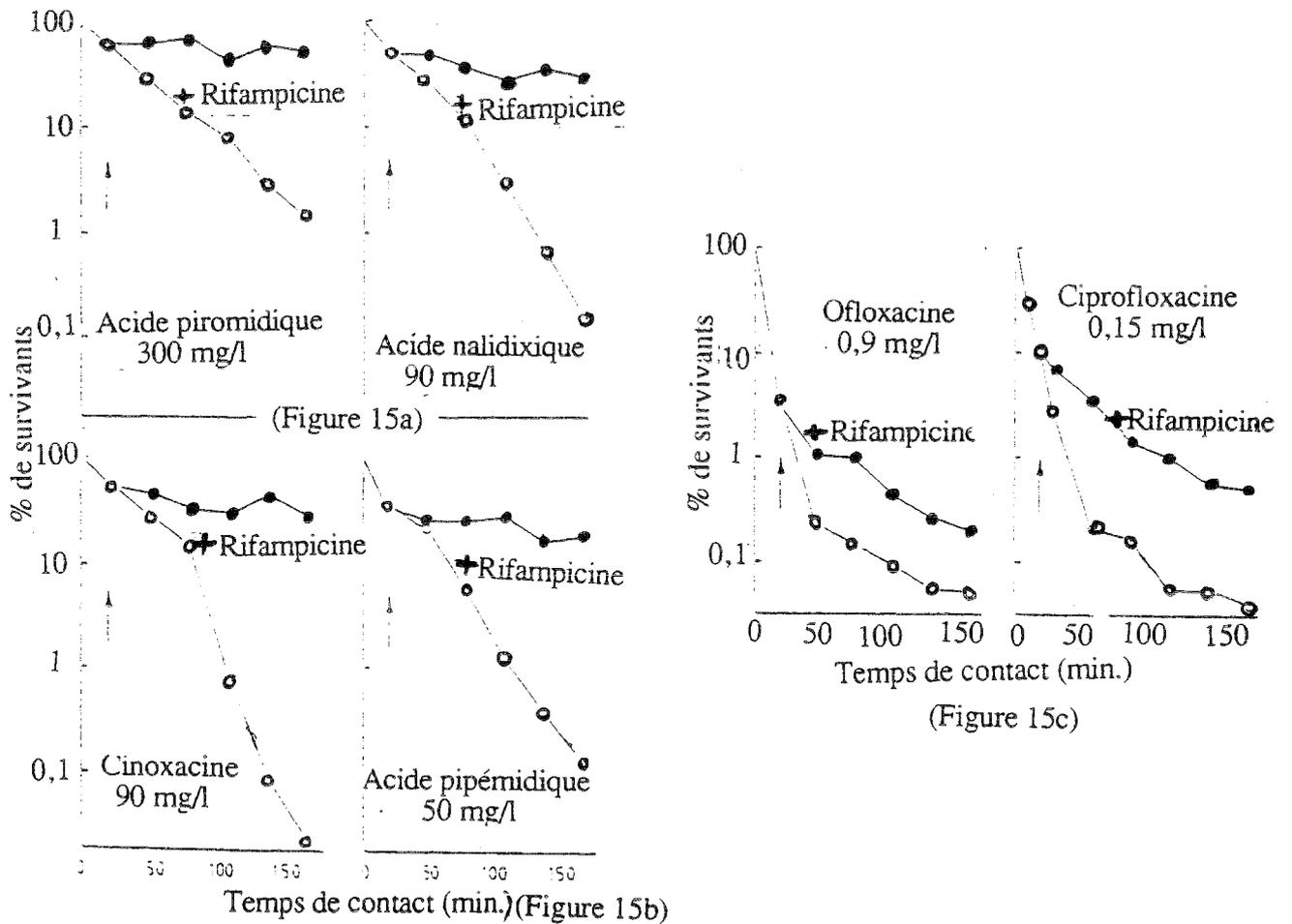


Figure 15: Effet de l'inhibition de la synthèse d'ARN sur l'effet bactéricide des quinolones chez *E.coli*. D'après Smith (109)

(○) Culture de contrôle.

(●) Culture en présence de Rifampicine à la concentration 160 mg/l.

Ces différentes courbes (figure 15) montrent que l'addition de Rifampicine ne fait que ralentir l'effet bactéricide de l'Ofloxacin et de la Ciprofloxacin (figure 15c), alors qu'il est totalement antagonisé avec les anciennes quinolones (Acide nalidixique,...(figure 15a et 15b)).

Les quinolones posséderaient deux mécanismes d'action bactéricide:

-l'un, commun à toutes les quinolones, qui peut être aboli par l'addition de Rifampicine.

-l'autre, propre aux nouvelles quinolones (Ciprofloxacine, Ofloxacine,.....), qui est résistant à l'action de la Rifampicine.

L'existence d'un tel mécanisme additionnel supposerait que la Ciprofloxacine et l'Ofloxacine soient plus rapidement bactéricides. Ces deux composés, à la concentration minimale bactéricide (CMB), annihilent 90% d'un inoculum bactérien en 19 min. alors que le temps moyen est de 59 min. pour les autres quinolones.(51).

1.2.1.313-Effet des quinolones sur le métabolisme de l'ADN, de l'ARN et des protéines (9,107)

Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN selon un processus dose-dépendant limité par un palier atteint pour des concentrations variables selon l'oxacine mise en oeuvre.

La *figure 16* traduit l'effet de la concentration en Norfloxacine sur la capacité de synthèse d'ADN de la souche PAO/303 de *P.aeruginosa*, appréciée par le taux d'incorporation d'adénine tritiée.

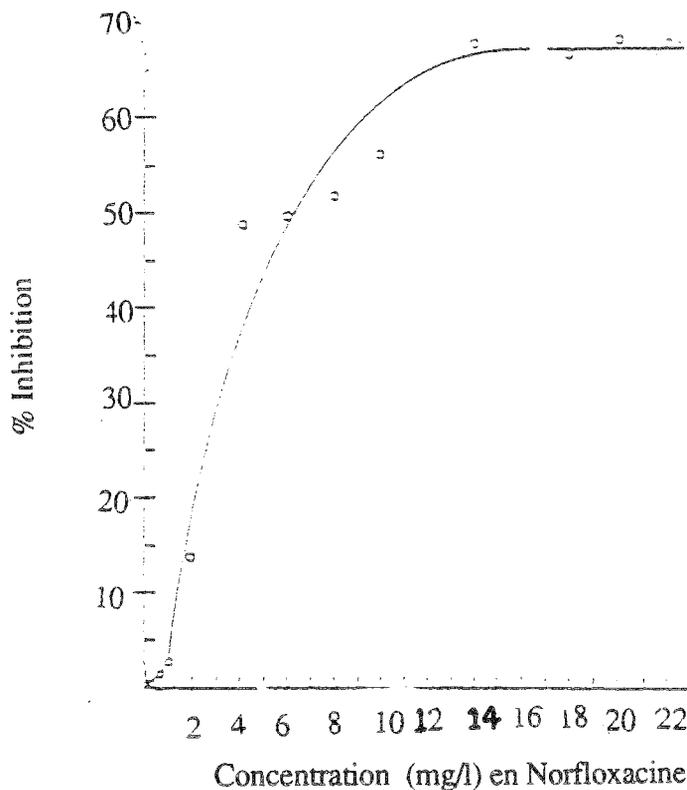


Figure 16: Effet inhibiteur dose-dépendant de la Norfloxacine sur la synthèse d'ADN, par *P.aeruginosa*. D'après Benbrook et coll.(9).

Chez *P.aeruginosa*, un rétablissement de la synthèse d'ADN peut être observé si on utilise des concentrations en quinolone comprises entre la CMI et la CMB. Ceci nécessite une synthèse protéique continue. On peut donc évoquer un phénomène d'induction par les quinolones qui, dans le cas de *P.aeruginosa*, n'est pas le système de réparation de l'ADN associé à la fonction SOS de la bactérie. La synthèse de l'ARN et des protéines est, quant à elle, inhibée aux fortes concentrations en quinolone. Dans le cas des protéines (23), il a été montré que les quinolones agiraient de manière plutôt sélective en inhibant la synthèse ou le transport de protéines spécifiques: sous-unité B de l'entérotoxine et β lactamase.

1.2.1.314-Induction de la réponse SOS

Pour expliquer la différence entre les concentrations minimum inhibitrices (CMI) ou bactéricides (CMB) et la concentration inhibant 50% de l'activité de la gyrase (CI₅₀), il faut faire appel à l'induction du système SOS qui est responsable de la bactéricidie. L'effet le plus important provoqué par les quinolones est la rapide inhibition de la synthèse d'ADN qui se produit même à faibles concentrations.

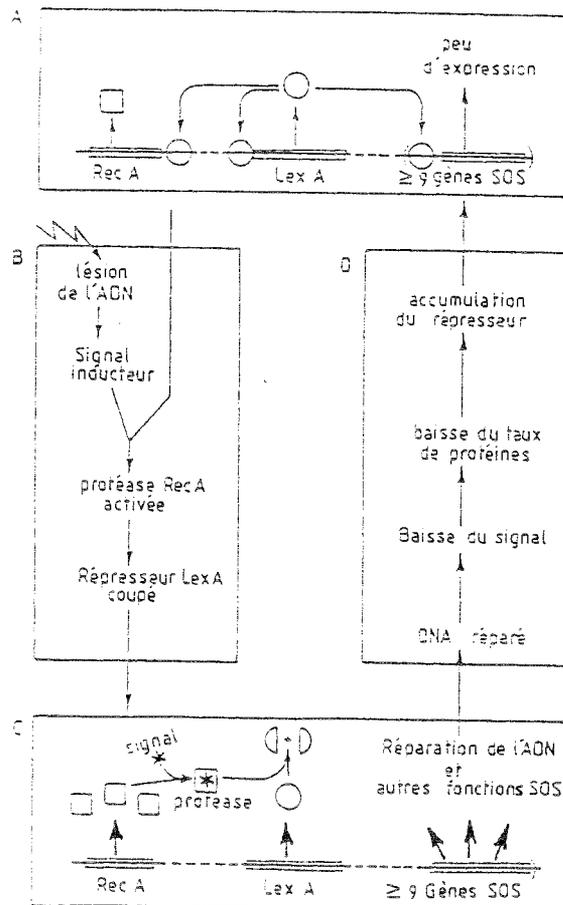


Figure 17: Système SOS. D'après Little et Mount (66)

Tout de suite après cette inhibition, apparaît une synthèse d'ADN RecA LexA-dépendante qui persiste plusieurs heures (39). Cette synthèse réparatrice est l'une des manifestations de l'expression d'un grand nombre de gènes SOS dont la répression est levée par un signal provenant de l'apparition de lésions sur l'ADN.

La *figure 17* (p.37) schématise le fonctionnement du système SOS (66,122,128):

En temps normal (A), les gènes du système SOS sont réprimés par la protéine LexA. La lésion de l'ADN produit un ou plusieurs signaux qui activent la protéine RecA (B,C). Celle-ci devient alors capable de couper LexA qui perd sa qualité de répresseur. Les gènes SOS peuvent alors s'exprimer. Ces gènes sont nombreux et ont de multiples fonctions dont, notamment, celle d'inhiber la division cellulaire (ce qui produit la filamentation), d'accroître la mutagenèse, d'augmenter la capacité de réparation, d'arrêter la respiration etc. et ceci peut conduire à la mort cellulaire.

Quand le signal diminue, RecA cesse d'être activée, LexA n'est donc plus coupée et, comme elle est constamment synthétisée, elle peut à nouveau réprimer les gènes SOS (D). La régulation de ce système est extrêmement complexe et fait intervenir plus d'une dizaine de gènes.

Le traitement par une quinolone produit des complexes ternaires gyrase-ADN-drogue qui provoquent des coupures double brins. A ce moment, la protéine RecBC, qui a plusieurs activités dont celle de dédoubler l'ADN, fait apparaître des zones simple brin qui sont un signal de déclenchement du système SOS (18).

Ceci explique pourquoi, lorsque les doses élevées de quinolone inhibent la synthèse protéique, l'effet bactéricide décroît. On comprend aussi pourquoi l'action des quinolones est réversible: si on enlève la drogue, la réparation s'effectue, le signal disparaît, le système SOS s'arrête et la division cellulaire peut reprendre.(74)

1.2.1.315-Action sur les plasmides

Plusieurs équipes de chercheurs (50,125,126) ont montré que les quinolones peuvent éliminer les plasmides bactériens si les conditions suivantes sont réunies :

- Les cellules en croissance cellulaire ne perdent pas réellement leurs plasmides, mais ce sont les cellules filles qui ne reçoivent pas l'ADN plasmidique nouvellement synthétisé.

- Les plasmides sont éliminés à des concentrations en quinolone proches des CMI. L'élimination plasmidique n'est jamais totale (125).

1.2.1.32-Activité des quinolones sur les topoisomères autres que la gyrase

1.2.1.321-Topoisomères I procaryotes

Tabary et coll. (119) ont montré que les quinolones inhibaient la topoisomérase I de *E.coli*. Les concentrations inhibitrices sont environ 10 fois supérieures à celles nécessaires pour inhiber la gyrase bactérienne.

1.2.1.322-Topoisomères I eucaryotes

Des concentrations élevées en quinolones inhibent l'activité de cette enzyme (119,123).

1.2.1.323-Topoisomères II eucaryotes

Les effets des quinolones sur la topoisomérase II de thymus de veau ont été étudiés par Hussy et coll. (54) et les résultats de ces travaux sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IX: Inhibition par les quinolones des topoisomères II de différentes origines (IC₅₀=concentration inhibant 50% de l'activité enzymatique) (51)

Quinolone	IC ₅₀ (mg/l)		
	Thymus de veau	Cellules Hela	Drosophile
Ciprofloxacine	150	-	-
Ofloxacine	1300	-	-
Norfloxacine	300	-	-
Acide nalidixique	1000	500	600

Les concentrations inhibant l'activité de la topoisomérase II sont élevées sauf dans le cas de la Ciprofloxacine. Pour ce composé, on se situe cependant à des concentrations assez proches des concentrations que l'on atteint en clinique, notamment dans les urines.

1.2.2-Autres inhibiteurs de l'ADN gyrase

De nombreux antimicrobiens de structure coumarinique ont été isolés de la culture de divers *Streptomyces*. Ainsi, ont été successivement identifiées la Novobiocine (48, 49) puis la Coumermycine (11, 59) et enfin la Chlorobiocine (84). Toutes ces molécules inhibent la respiration bactérienne ainsi que la synthèse d'ADN, d'ARN et celle des protéines bactériennes.(100). Leurs structures, qui sont précisées dans la figure 18 ci-après, font apparaître 3 fragments : A: acide p.hydroxybénzoïque substitué (cf. hypothèse de recherche § 2.4.11-p.76) isostère du P.A.B.A. (cf.§ 2.1.1-p.52); B: noyau coumarinique et C: noviose O-esterifié (carbamoyl dans la Novobiocine).

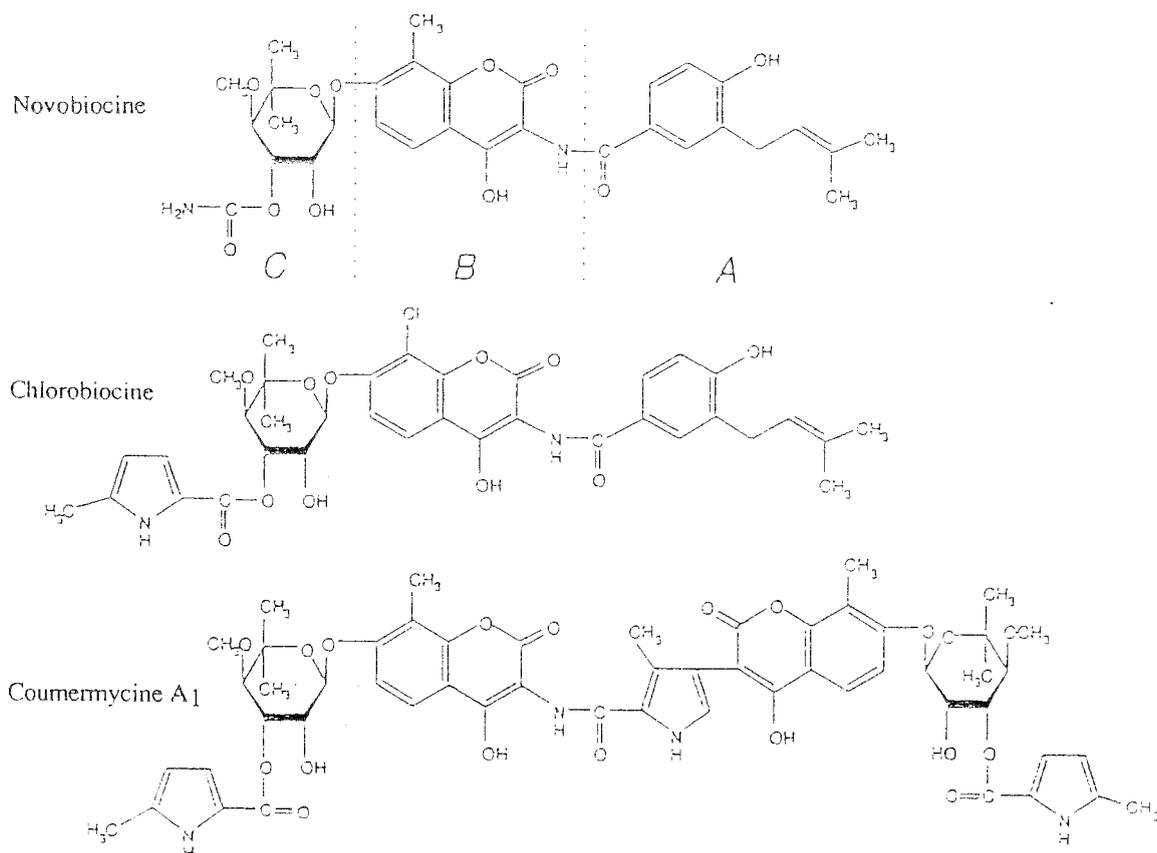


Figure 18 : Structure de divers dérivés coumariniques inhibiteurs de l'ADN gyrase.

On sait que la Novobiocine inhibe *in vitro* le surenroulement activé par l'ADN gyrase (43) mais le mode d'inhibition de la gyrase par les coumarines n'est pas encore clairement établi.(96).

Soulignons enfin qu'il existe d'autres inhibiteurs de l'ADN gyrase, de structure non coumarinique, comme l'Amsacrine [4-(9-aminoacridinyl)méthylsulfonamido-m-anisol] (96) (cf. figure 19 -p. 41).

1.2.3-Autres inhibiteurs des topoisomères

La figure 19 présente quelques molécules inhibitrices des topoisomères eucaryotes. Ces composés n'ont aucune parenté structurale avec les quinolones. A l'exception de la Camptothécine et de l'Etoposide, toutes ces molécules polycycliques possèdent des propriétés intercalantes. (92, 99)

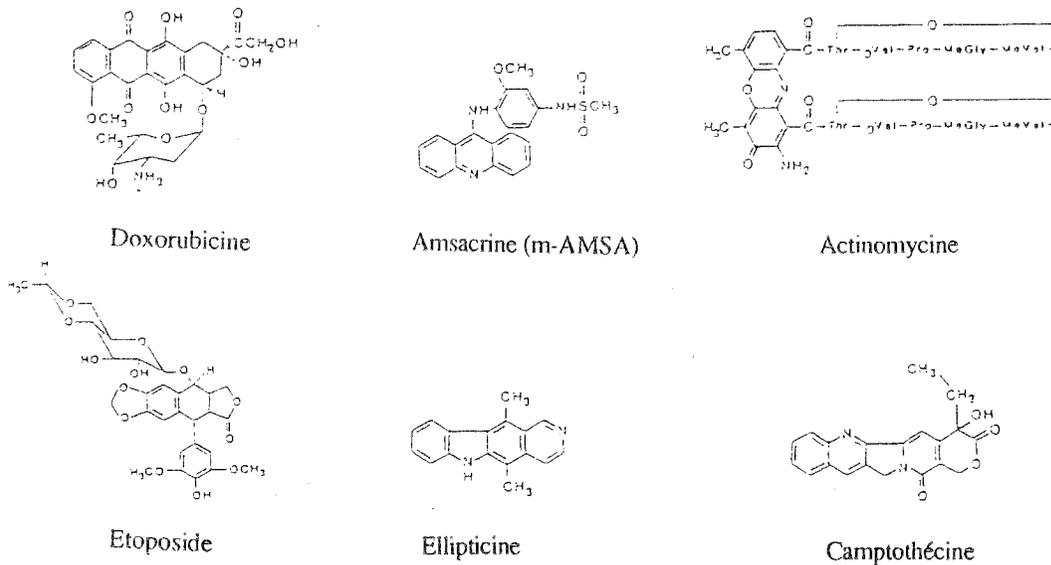


Figure 19 : Structures chimiques de drogues inhibitrices des topoisomères eucaryotes

1.2.3.1-Inhibiteurs de la topoisomérase I eucaryote

La Camptothécine, alcaloïde cytotoxique est un bon inhibiteur de la topoisomérase I. Elle introduit une coupure sur le double brin d'ADN, l'enzyme restant fixée de façon covalente à l'ADN (52). Elle ne provoque pas de changement de spécificité de fixation pour l'enzyme (16), et semble agir en se fixant à l'intérieur du complexe ADN-enzyme.(47).

1.2.3.2-Inhibiteurs de la topoisomérase II eucaryote

La topoisomérase eucaryote est la cible intracellulaire de nombreuses molécules antitumorales telles que les anthracyclines (Doxorubicine), les acridines (m-AMSA), les ellipticines, les actinomycines (Actinomycine D) et les épipodophyllotoxines (Etoposide).(36,53,99)

Ces molécules agissent sur l'étape coupure-resoudure de la topoisomérase II en "trappant" un complexe intermédiaire abortif enzyme-ADN appelé complexe dénaturable "cleavable complex".(53)

Un modèle de mécanisme d'action de ces composés est présenté dans la *figure 20* : les molécules induiraient en grande quantité le complexe dénaturable ADN-enzyme.

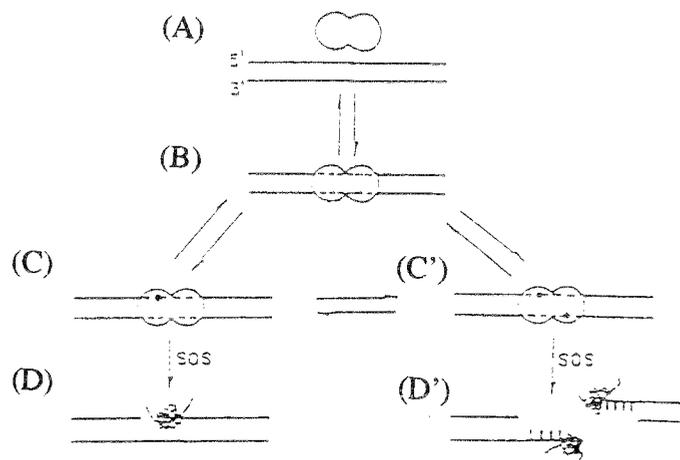


Figure 20: Mécanisme d'action des drogues antitumorales spécifiques de la topoisomérase II eucaryote . D'après Hsiang et coll. (53)

La fixation de l'enzyme sur l'ADN génère deux types de complexes:

- l'un est un complexe non dénaturable (B).
- l'autre est un complexe dénaturable (C) et (C'), qui sont en équilibre.

Les inhibiteurs déplacent l'équilibre vers (C) et (C') qui deviennent majoritaires.

L'action d'un détergent (Dodécylsulfate de sodium:SDS) produit une coupure simple brin (D) ou double brin (D'), l'enzyme restant liée de façon covalente aux extrémités 5'-P de l'ADN coupé.

1.3-MECANISME D'INHIBITION DE L'ADN GYRASE PAR LES QUINOLONES

Le mécanisme moléculaire par lequel les quinolones inhibent l'activité de surenroulement de l'ADN par la gyrase n'est pas encore totalement élucidé et a fait l'objet de nombreuses controverses (89, 103).

Shen et Pernet (104) suggèrent que la drogue se lie directement à l'ADN. Dans le même temps Moreau (75) puis Le Goffic (64) par des études en RMN du ^{19}F , ont montré que la Péfloxaciné présentait respectivement peu d'affinité pour l'ADN, une certaine affinité pour la gyrase mais par contre une très bonne affinité pour le complexe ADN-ADNgyrase.

Très récemment, Shen et coll.(105) ont complété ces résultats et montré que:

- 1-La fixation des quinolones sur l'ADN double brin (ADNdb) natif est faible et non coopérative. L'appariement des brins semble empêcher la fixation.
- 2-Les quinolones présentent une meilleure affinité pour l'ADN simple brin. La fixation est non coopérative et non spécifique.
- 3-Les quinolones se fixent de façon spécifique et coopérative sur l'ADN surenroulé colE1 ou les complexes ADN-ADNgyrase.
- 4-La gyrase favorise la fixation des quinolones sur les formes relâchées de l'ADN.

Ces mêmes auteurs (106) ont proposé un modèle d'inhibition de la gyrase par les quinolones (*figure 21*). Les molécules se fixeraient, dans un site induit par l'ADNgyrase sur l'ADN, de manière coopérative.

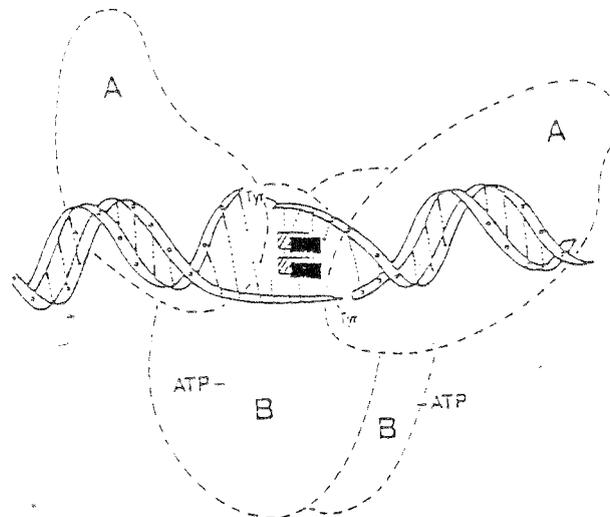


Figure 21: Modèle de fixation coopérative des quinolones (=) sur l'ADN lors de l'inhibition de l'ADN gyrase. D'après Shen et coll.(106)

La principale caractéristique de ce modèle réside dans le fait que la gyrase, liée par la tyrosine 122 de sa sous-unité A, induit un site de fixation des quinolones sur l'ADN relâché (le substrat) en présence d'ATP. La gyrase commencerait par couper les deux brins d'ADN avec un décalage de 4 paires de bases. Les deux brins d'ADN coupés avec des extrémités non cohésives doivent s'écarter afin de permettre le passage du segment d'ADN.

Cette "porte" ainsi formée durant cette étape intermédiaire semble être le site de fixation idéal. La fixation des molécules bloque les brins sur place et empêche la régénération de l'enzyme.

La coopérativité et la haute affinité sont dues aux fortes interactions entre les molécules de quinolone, ainsi que cela apparaît dans la *figure 22* qui, malheureusement, ne prend pas en compte l'influence des substitutions aux sommets 6 et 7 (F et N) et ne met pas en évidence l'enzyme.

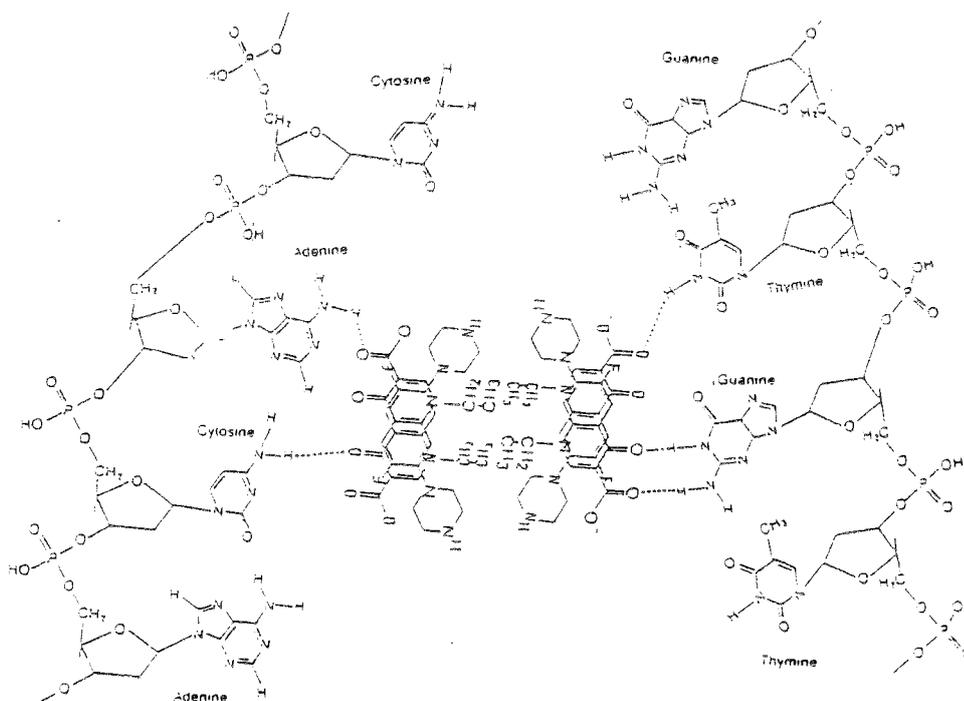


Figure 22: Association des quinolones (Norfloxacin) dans la "poche" simple brin d'ADN. D'après Shen et coll.(106)

Les quinolones interagissent de deux manières différentes:

- Superposition de deux noyaux quinoloniques voisins et formation de liaisons par hydrogène entre l'ADN et les atomes d'oxygène des carbonyles cétoniques et carboxyliques. Ces groupements sont disposés en opposition afin d'éviter les répulsions de charges.
- Formation d'interactions hydrophobes entre les deux groupes de quinolones voisins par l'intermédiaire des substituants N-éthyle.

Le phénomène de coopérativité pourrait s'expliquer par une première fixation due aux liaisons hydrogène formées, la deuxième fixation étant renforcée par les interactions hydrophobes.

La première fixation pourrait produire un changement conformationnel local sur le site récepteur de l'ADN jusqu'à saturation par d'autres molécules.

D'autre part, Rau et coll.(95) ont montré que la Norfloxacin stabilisait le complexe ADN-gyrase dans une conformation compatible avec une orientation particulière des brins d'ADN. Ces résultats semblent en accord avec le modèle proposé.

1.4-MECANISME DE RESISTANCE BACTERIENNE AUX QUINOLONES

1.4.1-Généralités

La résistance bactérienne aux quinolones est due à des modifications des gènes chromosomiques (23,51,79). Les plasmides porteurs des gènes de résistance aux quinolones n'ont pas encore été identifiés. De plus les quinolones antagonisent le transfert plasmidique et éliminent les plasmides.

La fréquence d'apparition de résistances spontanées aux fluoroquinolones est de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-10} lorsqu'elles sont sélectionnées à 4 fois la CMI (51). Dans la plupart des cas, la CMI vis-à-vis de souches résistantes est de 2 à 8 fois supérieure à celle de la souche parentale. De hauts niveaux de résistance peuvent même être atteints lorsque plusieurs mutations s'accumulent dans une même cellule.

Deux mécanismes de résistance aux quinolones ont été mis en évidence:

- une résistance qui confère une sensibilité accrue des germes aux quinolones mais pas aux antibiotiques sans parenté structurale. Ce type de résistance est lié à des mutations sur les gènes *gyrA* et *gyrB*.
- une résistance pléiotrope aux quinolones et à d'autres familles d'antibiotiques. Ces mutations sont associées à une diminution de la perméabilité cellulaire aux antibiotiques.

1.4.2-Résistance liée aux mutations de la gyrase

Une mutation chromosomique sur un des deux gènes de la gyrase codant pour la sous-unité A (*gyrA*) ou la sous-unité B (*gyrB*) peut conférer une résistance aux quinolones (78).

1.4.2.1-Mutations sur le gène *gyrA*

Un exemple de mutation de *gyrA*, qui affecte la cible des quinolones (résistance immédiatement très élevée), est présenté dans le *tableau X*.

Tableau X: Sensibilité de mutants spontanés *gyrA* aux quinolones chez *E.coli* KL-16. D'après Yoshida et coll.(132)

Souche	Mutation <i>gyrA</i>	CMI (mg/l)					
		Ac. nalidixique	Ac. pipémidique	Norfl- oxacine	En- oxacine	Of- oxacine	Ciprofl- oxacine
KL-16	Wild	3,13	1,56	0,05	0,1	0,05	0,0125
N-51	nal-51	400	25	0,78	1,56	0,78	0,39
P-18	ppa-18	400	25	0,78	1,56	0,78	0,39
P-10	ppa-10	25	6,25	0,2	0,39	0,2	0,05
N-89	nal-89	12,5	3,13	0,1	0,2	0,1	0,05

La mutation se situe dans une région vicinale à la Tyrosine-122 et pourrait ainsi empêcher la fixation de la quinolone sur le complexe ADN-ADNgyrase.(132)

1.4.2.2-Mutations sur le gène *gyrB*

Deux mutations ponctuelles de *gyrB* conférant une résistance aux quinolones, ont été situées sur les nucléotides 1276 et 1339 de la séquence codante *gyrB* (132). Le résultat de ces mutations est un changement dans les acides aminés 426 et 447. D'autres mutations sur *gyrB* ont été rapportées (68). Les mutations *gyrB* entraînent une imperméabilité mais la résistance est d'un niveau moins élevé que pour les mutations *gyrA* et, de plus, n'intéressent que certaines quinolones.

Outre les deux types de mutation *gyrA* et *gyrB*, il convient de noter la mise en évidence de deux autres mutations *nalC* et *nalD* dont les effets sont présentés dans le tableau XI.

Tableau XI : Accroissement de la résistance aux 4-quinolones en fonction des mutations. D'après Smith (107)

	Mutants bactériens			
	Rapport entre la CMI du mutant résistant et la CMI de la souche sensible KL 16			
	<i>nalA</i>	<i>nalB</i>	<i>nalC</i>	<i>nalD</i>
Ciprofloxacine	7,5	1	0,2	2,5
Ofloxacine	5	1	0,1	3
Norfloxacine	5	1	0,12	2
Acide oxolinique	15	1	7,5	4
Rosoxacine	20	2	25	4
Fluméquine	19	2,5	2,5	2
Acide pipémidique	10	1	0,2	4
Cinoxacine	10	2,5	3	2
Acide nalidixique	25	2,5	17	7
Acide piromidique	53	4	10	10

1.4.3-Résistance liée au passage transmembranaire

Comme l'ADN gyrase est localisée dans le cytoplasme de la cellule bactérienne, les quinolones doivent franchir la membrane cellulaire pour exercer leur activité antibactérienne. La membrane de *E.coli* est relativement imperméable aux molécules hydrophobes (85). Les nouvelles quinolones, caractérisées par la présence en position 7 d'une pipérazine (ou plus généralement d'un cycle azoté), sont moyennement hydrophiles et, de ce fait, pénètrent plus rapidement dans la bactérie que l'Acide nalidixique (cf. objectifs pharmacochimiques de S6 p.102).(17)

Les nouvelles quinolones pénètrent dans la bactérie par l'intermédiaire des porines OmpF et OmpC qui sont des protéines de la membrane externe permettant le passage de petites substances hydrophiles (8). Les quinolones se comporteraient comme des

agents chélatants vis-à-vis de la membrane externe en se fixant notamment sur les lipopolysaccharides.(17,30).

La figure 23 résume l'interaction des quinolones avec la membrane de *E.coli*

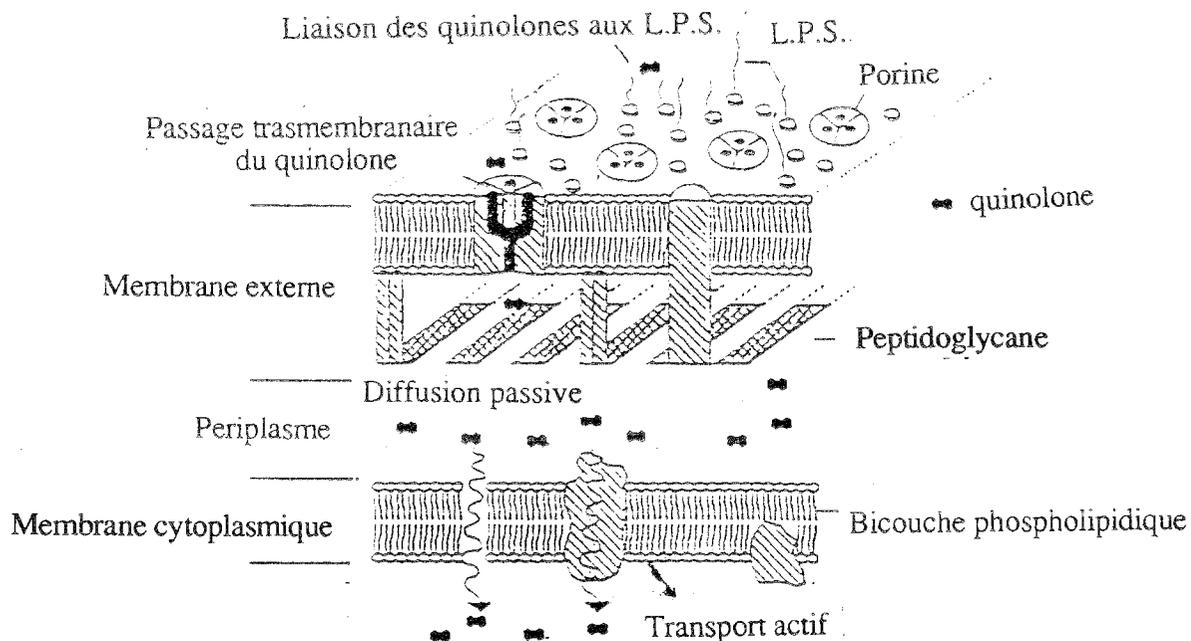


Figure 23: Modèle décrivant la membrane des cellules Gram-négatives et les modes possibles de pénétration cellulaire des quinolones. D'après Diver (31) (L.P.S. : Lipopolysaccharide)

Il a été montré que seuls les mutants déficients en OmpF acquièrent une résistance faible à la Norfloxacin (2 à 4 fois la CMI).(26)

1.5-CONCLUSION

L'inhibition de l'ADN gyrase par les quinolones constitue un des axes de recherche le plus prometteur de la chimiothérapie antibactérienne. Les molécules introduites en thérapeutique et celles en cours de développement bénéficient certes de qualités remarquables (spectre large inégalé, biodisponibilité exceptionnelle même par voie orale,...) mais aussi d'effets indésirables (5-20 %) de type centraux, osseux,..., de perte d'activité par résistance (*S.aureus*,...), de contre-indications absolues chez l'enfant de moins de 15 ans, la femme enceinte et celle qui allaite. Dès lors, il nous est apparu intéressant, d'envisager comment, par pharmacomodulation du squelette quinolone (ouverture de cycle,...), il était possible, par création de nouveaux "composés de tête", d'atténuer ces insuffisances.

*2-ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES
SUR LA CHIMIE DES ACIDES
1,4-DIHYDROPYRIDONE-3-CARBOXYLIQUES
ET DE LEURS ANALOGUES "OUVERTS"*

Notre travail a consisté à synthétiser des molécules chimiquement originales, apparentées au profil des "monoquinolones" et répondant à la structure générale (**S_G**) indiquée dans la *figure 24*. Celle-ci présente également les schémas de rétrosynthèse des archétypes **S₁-S₈** synthétisés dans ce travail.

Toutefois, il convient de préciser, que certains d'entre eux (**S₁-S₃**) n'ont pu être obtenus (ce que nous tenterons d'expliquer, en avançant quelques hypothèses), et seuls leurs précurseurs **I,II** pour **S₁(S₃)** et **III,IV** pour **S₂** seront décrits dans ce mémoire.

Dans chacune des parties de ce chapitre nous développerons les aspects suivants:

- Objectifs pharmacochimiques.
- Stratégie de synthèse:
 - Principales voies d'accès à la structure **S_G**.
 - Choix de la (ou des) méthode(s) retenue(s).
- Plan de synthèse.
- Composés obtenus.

Pour quelques séries de composés, nous proposons un schéma de fragmentométrie de masse.

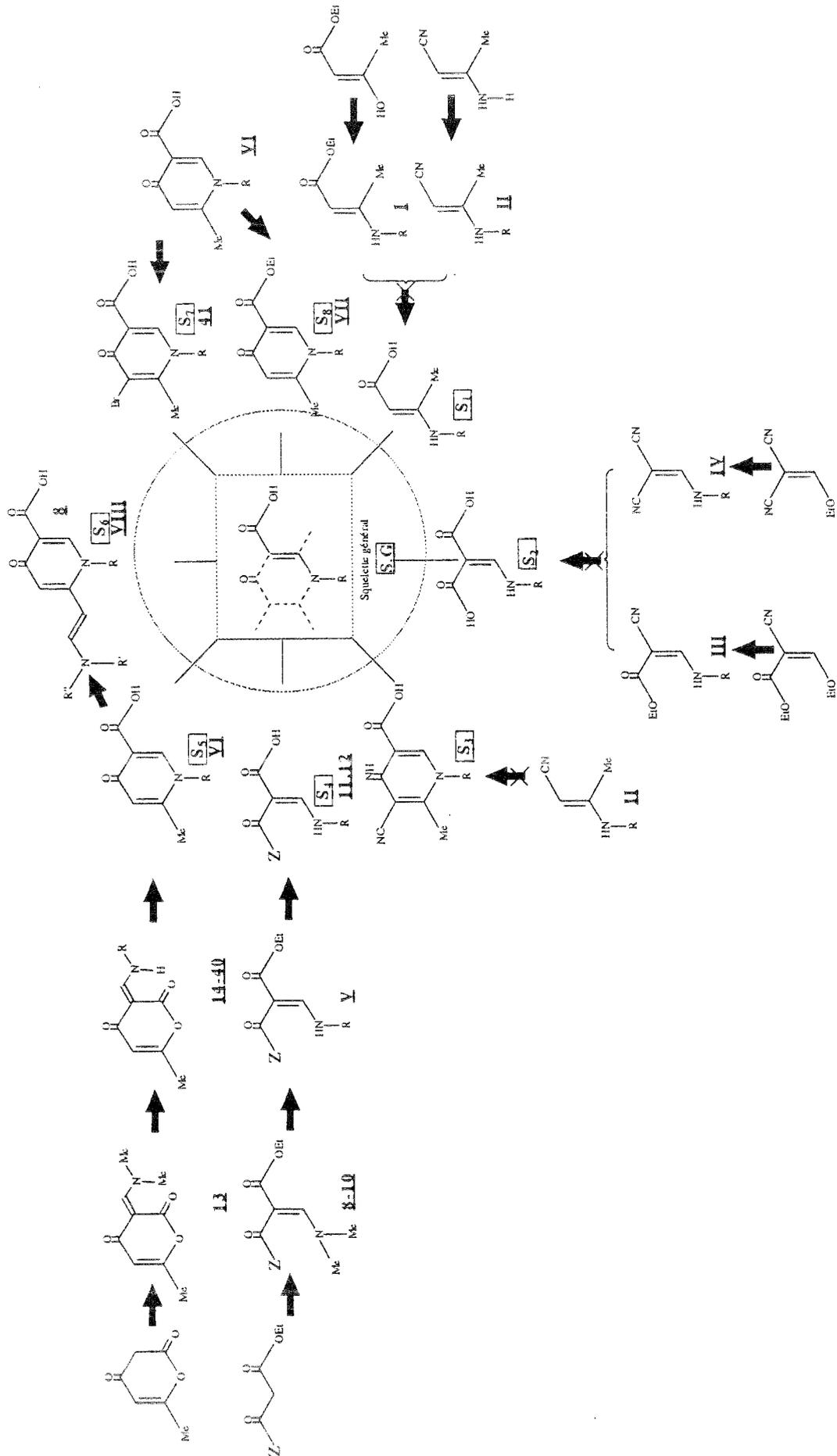
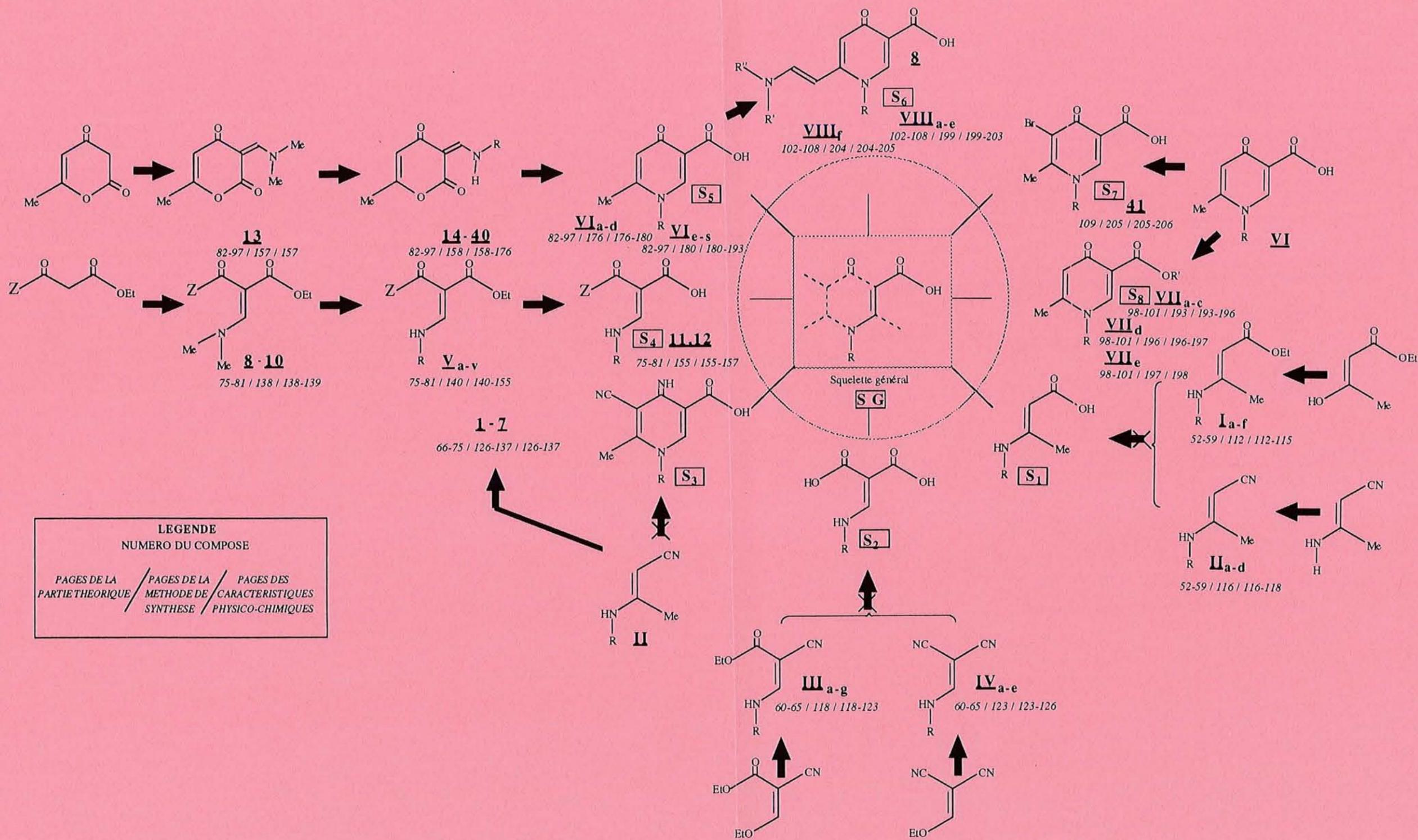


Figure 24: Structures générales et schémas de rétrosynthèse des composés obtenus



LEGENDE
NUMERO DU COMPOSE

PAGES DE LA PARTIE THEORIQUE	PAGES DE LA METHODE DE SYNTHESE	PAGES DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CIMIQUES

**2.1-SYNTHESE DES 3-N-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARYL)
AMINOBT-2-ENOATES D'ETHYLE Ia-f
ET DES 3-N-CYCLOALCOYL(ARALCOYL,ARYL)
AMINOBT-2-ENENITRILES IIa-d**

2.1.1-Objectifs pharmacochimiques

L'obtention des esters **I** et des nitriles **II** répond à un double objectif :

-Le premier est d'ordre chimique puisque, d'une part, ces 2 types de dérivés fonctionnels constituent logiquement les précurseurs immédiats d'accès aux molécules **S₁** (cf. *figure 24* -p. 51 et *schéma 2* -p. 55) et que, d'autre part, ils constituent également un des réactants de synthèse de l'archétype **S₃** conformément au *schéma 1*.

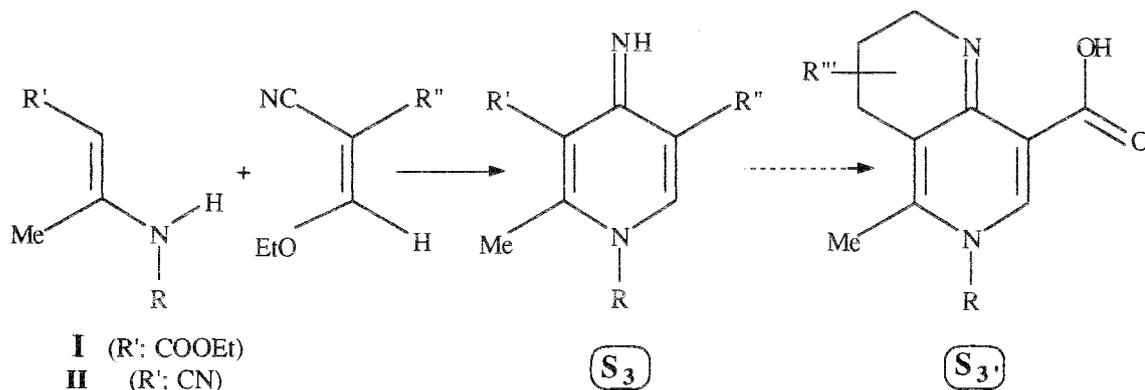


Schéma 1 : Participation des dérivés fonctionnels **I** et **II** à la synthèse de **S₃** et **S_{3'}** (R':R'':CN,COOEt) .D'après Kuthan (63)

Ce schéma de synthèse, procédant d'une adaptation de la réaction de Kuthan (63) à la synthèse des acides 4-imino-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **S₃** [R' : CN; R'' : COOH] qui sont les isostères (NH isostère de O) et homologues dicarboxyliques des "monoquinolones" **S₅**, devait nous permettre d'obtenir les composés bicycliques **S_{3'}** porteurs d'une bonne potentialité antibactérienne (présence des pôles pharmacophores des Oxacines: structure acide β -cétonique sous forme d'imine et fonction énamine).

-Le second objectif poursuivi avec l'obtention de **I** et **II**, est à visée thérapeutique. En effet, la structure **S₁**, dont ils sont les précurseurs, rappelle à l'évidence, (*figure 25*) le profil "ouvert" (3-aminoprop-2-énoïque) des quinolones et, à un degré moindre, celui de l'acide p-aminobenzoïque (substrat du schéma biosynthétique des nucléoprotéines bactériennes).

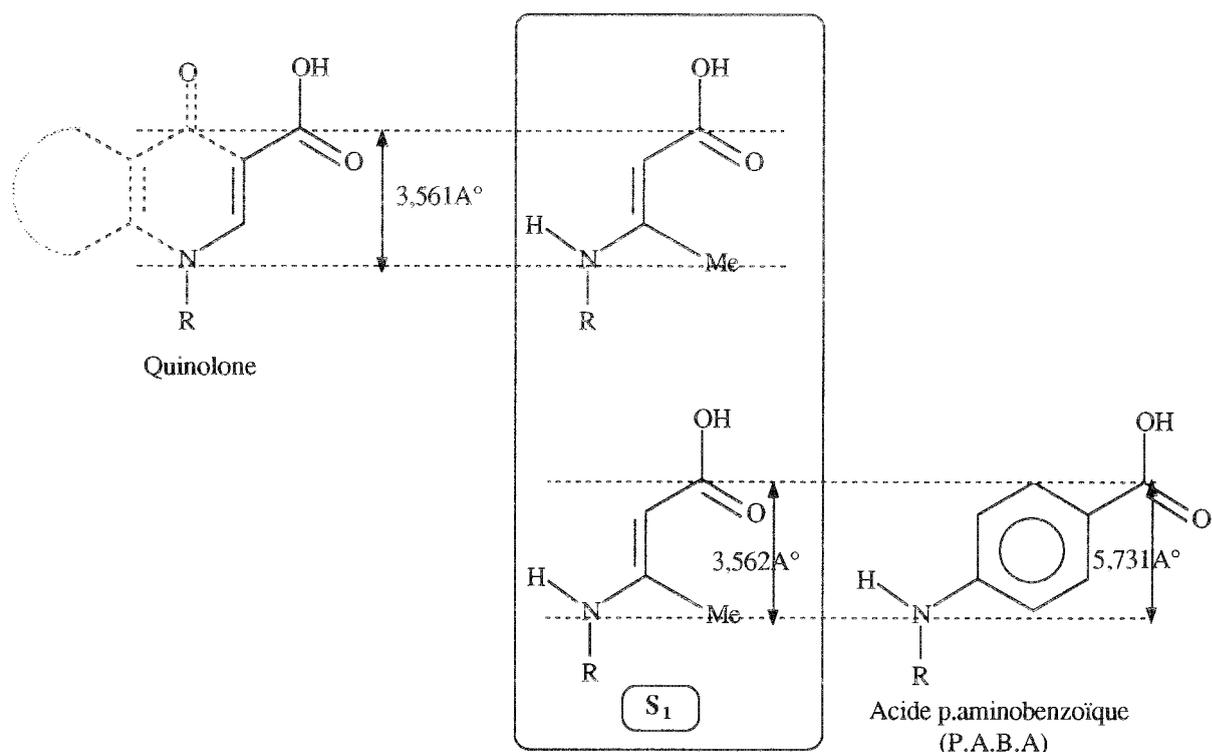


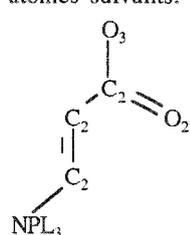
Figure 25: Parenté structurale de l'archétype **S₁** avec la structure des quinolones et du P.A.B.A.

L'analogie de géométrie moléculaire (cf*.notes de bas de pages*53 et 54) de **S₁** (configuration *E*) et de l'archétype quinolone présentée dans la *figure 26*, permet

* Calcul des dimensions moléculaires de **S₁-S₈**, après minimisation d'énergie

a) Modélisation moléculaire

Les structures **S₁-S₈** sont construites, en utilisant la banque de données ALCHEMY II (Tripos Associates). L'enchaînement acide 3-aminoprop-2-énoïque (motif commun à **S₁-S₈**) est par exemple réalisé avec les atomes suivants:



C₂: carbon sp² (les substituants Me de **S₁, S₃, S₅-S₈** sont construits avec C₃: carbone sp³ et le cycle B des quinolones, avec CAR: carbone aromatique.)

O₂: oxygène sp².

O₃: oxygène sp³.

NPL₃: azote trigonal plan.

b) Minimisation d'énergie

Le programme informatique ALCHEMY II, calcule les différentes composantes énergétiques (Energie de liaison, d'angle, .../cf. formule ci-après) pour atteindre le premier minimum du puits d'énergie, correspondant à un état très proche de la conformation moléculaire la plus stable et par conséquent la plus probablement adoptée par **S₁-S₈** et le modèle quinolone. C'est sur ces conformations que nous avons mesuré les dimensions moléculaires de **S₁-S₈**, dont l'énergie totale est calculée comme suit:

$$E_{\text{Kcal/mol}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{oop}}$$

E_{liaison}

Cette énergie d'élongation de liaison (bond stretching) est fonction de:

d_i = longueur (Å) de la *i*ème liaison.

d_i^0 = longueur (Å) à l'équilibre de cette liaison

K^{d_i} = constante d'élongation (Kcal/mol.Å²).

d'espérer pour ces nouveaux composés une activité et un mécanisme d'action antibactérien par inhibition de l'ADN gyrase.

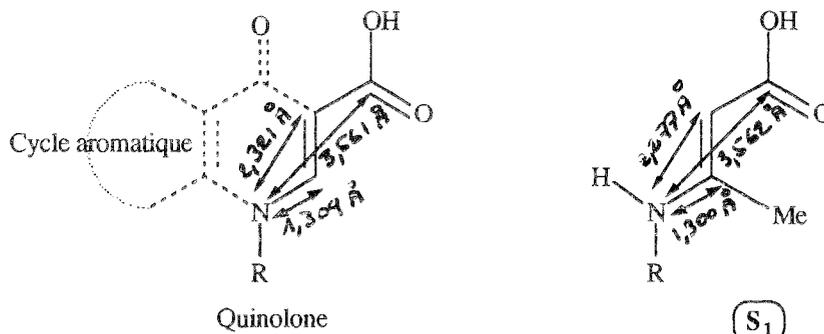


Figure 26: Analogie de géométrie moléculaire de **S1** avec la structure quinolone

$$E_{\text{liaison}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{liaison}}} K_i \frac{d_i}{2} (d_i - d_i^0)^2$$

E_{angle}

Cette énergie de déformation des angles de liaisons est fonction de:

θ_i = Angle constitué par 2 liaisons vicinales ($^\circ$).

θ_i = Angle ($^\circ$) à l'équilibre.

K_i = Constante de déformation d'angle (Kcal/mol. $^\circ^2$).

$$E_{\text{angle}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{angle}}} K_i \frac{\theta_i}{2} (\theta_i - \theta_i^0)^2$$

E_{torsion}

Cette énergie de torsion est fonction de:

w_i = Angle de torsion ($^\circ$).

K_i = Constante de torsion d'angle (Kcal/mol. $^\circ^2$).

per_i = période.

$\text{sign}(x) = -1$ ($x < 0$)

1 ($x \geq 0$)

$$E_{\text{torsion}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{torsion}}} K_i \frac{1}{2} (1 + \text{sign}(\text{per}_i) \cdot \cos(\text{per}_i \cdot w_i))$$

E_{vdw}

Cette énergie de Van der Waals est fonction de:

E_{ij} = Constante de Van der Waals (Kcal/mol.).

$a_{ij} = r_{ij} / (R_i + R_j)$.

r_{ij} = Distance entre les atomes i et j (Å).

R_i = Rayon de Van der Waals du i ème atomes.

$$E_{\text{vdw}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{atomes}}} \left(\sum_{j>i} E_{ij} \left[\frac{1}{12} \frac{1}{a_{ij}^6} - \frac{2}{6} \frac{1}{a_{ij}^3} \right] \right)$$

E_{oop}

Cette énergie de déformation hors du plan (out of plane bending) est fonction de:

K_i = Constante de déformation hors du plan pour l'atome du type (Kcal/mol.).

$$E_{\text{oop}} = \sum_{i=1}^{N_{\text{oop}}} \frac{K_i}{2} d_i^{\delta}$$

Par contre, les distances interatomiques des "sommets" carbonés et azotés pharmacophores de **S1** et du P.A.B.A (*figure 27*) sont assez dissemblables, mais il est vrai que les analogues sulfamoylés (Bactrim®, Bactekod®,...) isostères de cet acide, sont de remarquables antibactériens (groupe K.E.S.,...), par un mécanisme (inhibition de l'acide folique) fondamentalement différent de celui des quinolones.

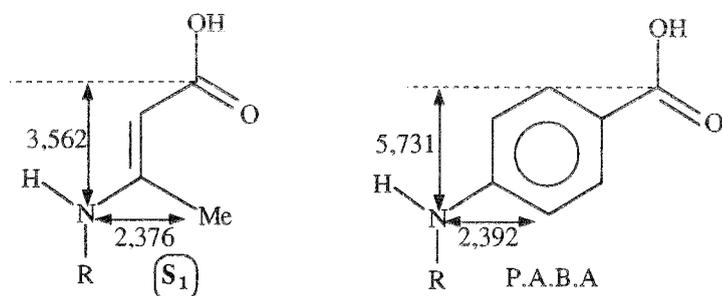


Figure 27: Analogie de géométrie moléculaire de **S1** avec la structure du P.A.B.A.

2.1.2-Stratégie de synthèse

2.1.2.1-Principales voies d'accès à la structure **S1**

Le squelette **S1** peut être obtenu au départ, soit de 3-N-subst.aminobut-2-énoates d'éthyle **I**, soit de 3-N-subst.aminobut-2-ènenitriles **II**, comme le montre le schéma 2.

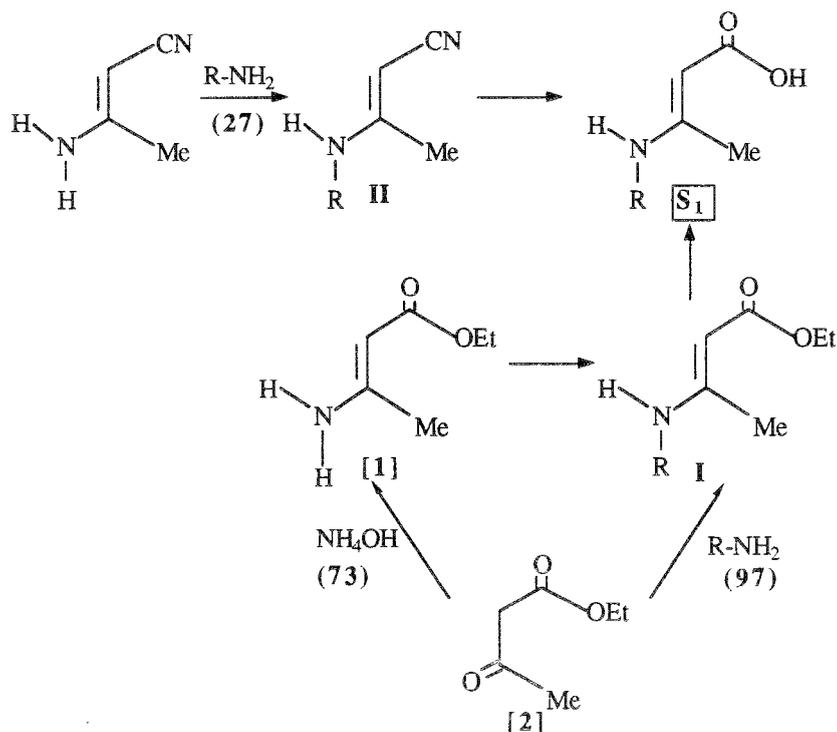


Schéma 2: Obtention des esters éthyliques **I** et nitriles **II** de l'acide 3-alcóyl(aryl)amino but-2-énoïque **S1**.

Les dérivés **I** peuvent être obtenus principalement au départ :

-De l'acétylacétate d'éthyle [2], selon la méthode de Reynolds et coll.(97), par action d'une amine primaire, à reflux. D'autres conditions opératoires (12 h.à température ambiante, présence de quantités catalytiques de chlorhydrate d'amine correspondant, d'iode...) ont également été décrites .

-Du 3-aminobut-2-ène d'éthyle.[1], formé par amination à chaud des dérivés [2](73) qu'il suffit de monosubstituer à l'ordre d'une amine primaire .

Par contre, les nitriles **II** sont obtenus directement, selon Dedina et coll.(27) à partir du 3-aminocrotononitrile par simple substitution nucléophile du C sp², (porteur du groupement NH₂ partant) au moyen d'une amine primaire (à la fois réactif et solvant), maintenue à reflux.

2.1.2.2-Choix des méthodes retenues

Nous avons utilisé la méthode de Reynolds et Hauser (97), pour synthétiser les produits **Ia-f** en raison de sa facilité de mise en oeuvre et des excellents rendements qu'elle donne et celle de Dedina et coll.(27) pour obtenir les produits **IIa-d**. Les études mathématiques et spectroscopiques approfondies (effet NOE: Nuclear Overhauser Effects) sur ce genre de molécules prouvent que les produits **II** (R:Et,n.Pr.,Bz) obtenus sont exclusivement des isomères géométriques de type *E*.

Pour obtenir les acides correspondants **S1**, nous avons essayé sans succès plusieurs méthodes d'hydrolyse, notamment:

-par action d'une solution d'hydroxyde de sodium ou de potassium, à des concentrations variées (10%,20%,30%,50%) et dans des conditions opératoires très différentes (à reflux, durant 12 h.à 96 h.).

-par acidolyse au moyen d'un large excès d'acide acétique, en milieu chlorhydrique concentré, à reflux durant plusieurs heures (transfert du groupement éthoxy de **Ia-f** sur AcOH, avec formation de AcOEt).

Selon les conditions opératoires mises en oeuvre, nous observons:

-soit une absence de réaction de transformation des esters **I** et des nitriles **II** en acides attendus.

-soit la dégradation (*schéma 3*) de l'imine correspondant à **I** et **II** en amine primaire et composés β -cétonique ayant subi (X: COOEt) partiellement ou non le "dédoublément" basique ou acide (*schéma 4*).

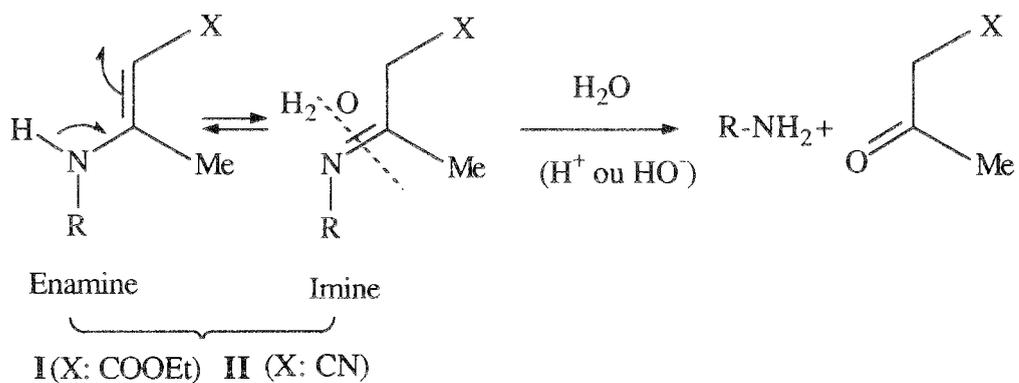
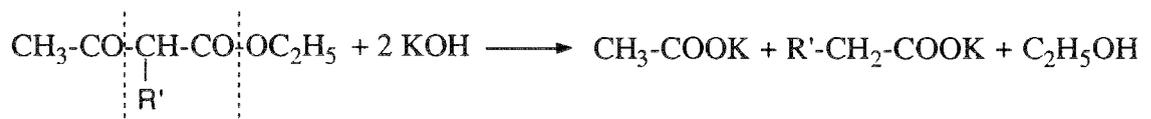


Schéma 3 : Mécanisme de dégradation de **I** et **II** en milieu basique ou acide.

-En milieu basique (Ex: Hydroxyde de potassium)



-En milieu acide

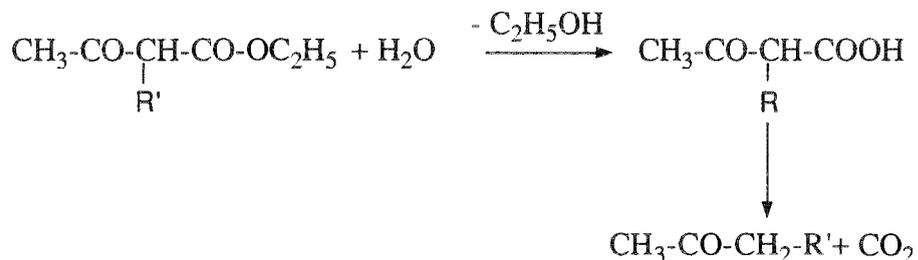


Schéma 4 : Dédoublément des esters β -cétoniques (acétylacétate d'éthyle; R':H)

2.1.3-Plan de synthèse

Les produits **Ia-f** sont obtenus à partir de l'acétylacétate d'éthyle et de deux équivalents d'une amine primaire, au sein du benzène, à reflux et en présence de quantités catalytiques d'acide acétique. La quantité d'eau, recueillie dans le séparateur de Dean et Stark (azéotrope avec le benzène), est un indicateur du déroulement de la réaction. Nous avons éliminé les solvants, puis purifié les produits obtenus par simple rectification sous pression réduite.

Les produits **IIa-d** sont obtenus en adaptant la méthode de Dedina et coll. (27). Le 3-aminocrotononitrile est mis en suspension dans un large excès de l'amine correspondante puis ce mélange réactionnel est porté à reflux jusqu'à arrêt du dégagement gazeux de NH_3 obtenu après un chauffage de 2 h.. Les produits finaux précipitent par simple refroidissement: ils sont ensuite essorés, lavés à l'éther de pétrole et enfin recristallisés dans l'éthanol à 95° . Les rendements obtenus varient de 90% pour les substituants alicycliques, (traduisant la forte nucléophilie des cycloalcoylamines) à environ 50% pour les substituants aromatiques, en raison de la faible disponibilité du doublet de l'azote (mobilisé par la mésomérie) des arylamines. Le schéma 5 précise le mécanisme réactionnel des méthodes retenues.

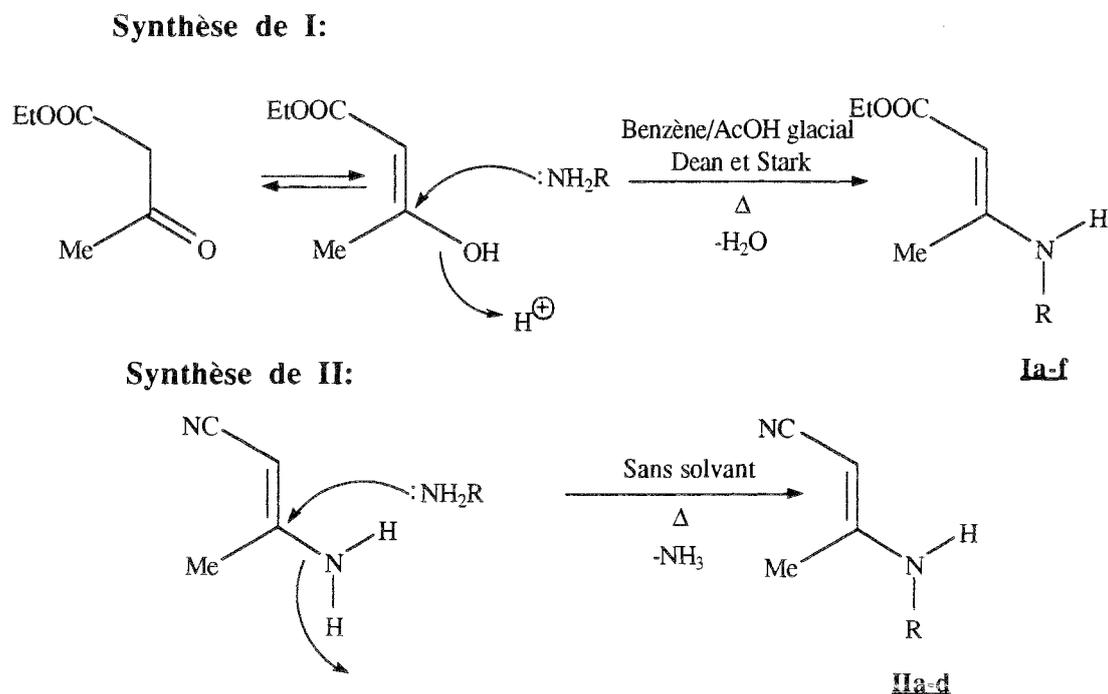


Schéma 5 : Plan de synthèse des dérivés I et II

2.1.4-Composés obtenus

Nous avons obtenu 6 esters **I** et 4 nitriles **II**, répondant aux structures précisées dans les *tableaux XII* et *XIII*.

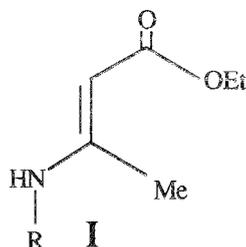


Tableau XII

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
Ia	H	94	cf.p.112	cf.p.112
Ib	Et	77	"	cf.p.113
Ic	n.Bu	99	"	"
Id	c.Pr	99	"	cf.p.114
Ie	c.Hex	82	"	"
If	4-F Ph	88	"	cf.p.115

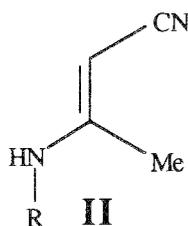


Tableau XIII

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
IIa	c.Pr	98	cf.p.116	cf.p.116
IIb	c.Hex	89	"	cf.p.117
IIc	Bz	70	"	"
IId	4-F Ph	53	"	cf.p.118

2.2-SYNTHESE DES N-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARALCOYL, ARYL)AMINOMETHYLENCYANOACETATES D'ETHYLE III_{a-g} ET DES N-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARALCOYL, ARYL)AMINOMETHYLENEMALONONITRILES IV_{a-e}

2.2.1-Objectifs pharmacochimiques

L'intérêt de synthétiser (*schéma 6*) les esters **III** (X: COOEt) et nitriles **IV** (X: CN), respectivement homologues β -cyanés des énamines **I** et **II**, procède de leur rôle de précurseurs des dérivés N-substitués des acides:

- ◆ 2-N-subst.aminométhylène-1,3-dioïques : **S₂**
- ◆ 1-N-subst.dicarboxyliques : **S₃^{''}** (produit d'hydrolyse de la cétimine α -cyanée **S₃** envisagée précédemment / cf. p. 52)

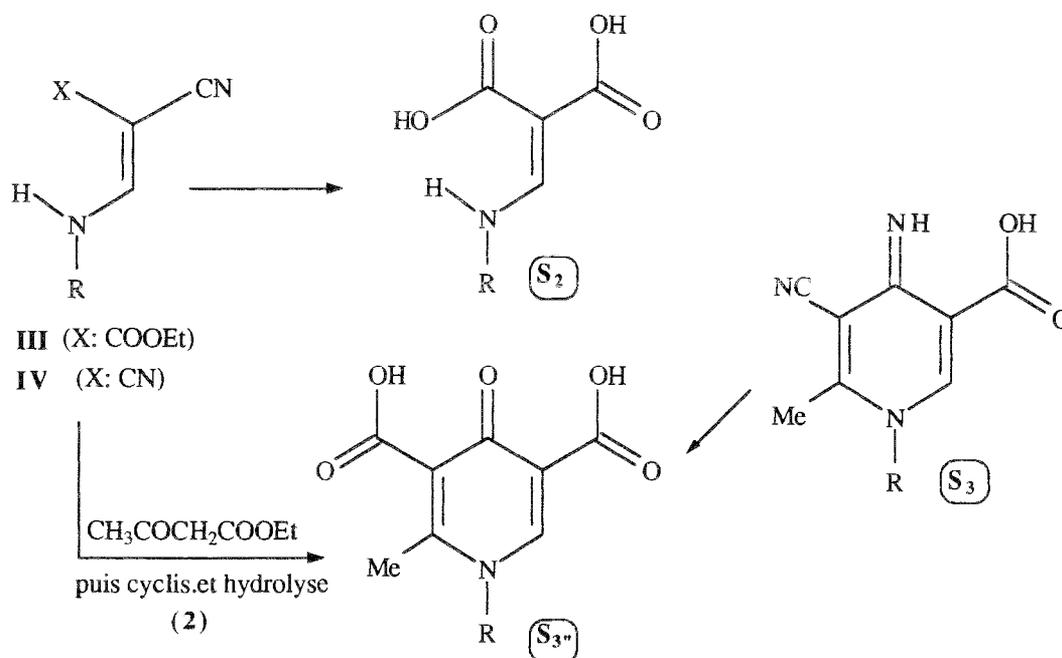


Schéma 6 : Filiation des aminométhylèncyanoacétates d'éthyle **III** et malononitriles **IV** aux analogues ouverts **S₂** des "monoquinolones" **S₃^{''}**.

Les structures **S₂**, **S₃** et **S₃^{''}** présentent une géométrie moléculaire, après minimisation, tout à fait superposable à celle des quinolones (*figure 28*), notamment, en ce qui concerne les distances interatomiques, impliquant le carbonyle C₄=O (ou cétimine) créé dans ces structures.

Distance interatomique	S ₂	S ₃	S ₃ "	Quinolones
N ₁ -C ₃	2,367	2,340	2,309	2,355 Å
N ₁ -C _{3'}	3,526	3,526	3,528	3,561 Å
N ₁ -C ₄	2,775	2,643	2,628	2,732 Å
C ₄ -C _{3'}	2,425	2,381	2,387	2,361 Å

Nous avons visualisé, ci-après, les structures S₂, S₃, et S₃" et le modèle quinolone dans leur conformation correspondant au minimum énergétique.

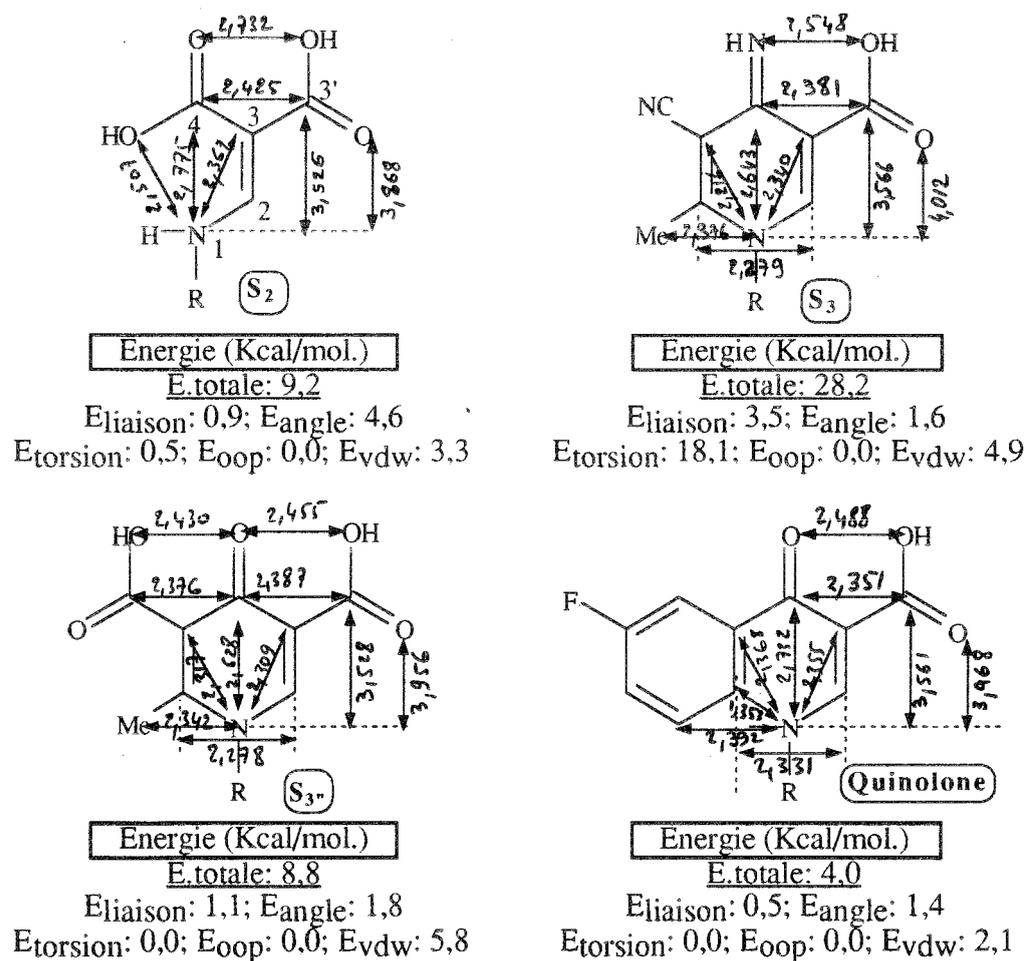


Figure 28: Géométrie moléculaire de S₂, S₃ et S₃"

De telles analogies structurales de S₂, S₃ et S₃" avec l'archétype quinolone, permettent d'espérer, pour ces nouveaux dérivés, une potentialité antibactérienne.

2.2.2-Stratégie de synthèse des précurseurs de S₂

La stratégie de synthèse pour accéder à S₂ et S_{3''} au départ de III ou IV, bien qu'apparemment aisée, n'a pu être menée à bien.

L'obtention des dérivés S₂ (schéma 7) procède d'une réaction d'hydrolyse affectant, soit la fonction ester de III, soit la fonction nitrile de IV. Quelques soient les conditions opératoires mises en oeuvre (pH, température, temps réactionnel), nous n'avons pu obtenir les diacides-1,3 (S₂) dont, bien entendu, nous connaissons le caractère générique d'instabilité (décarboxylation avec formation du monoacide correspondant).

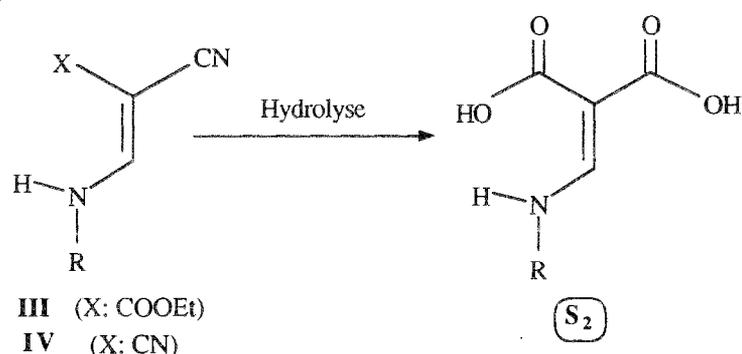


Schéma 7: Obtention de S₂

-Le schéma de synthèse des composés peut être dérivé de la réaction d'Agui (2), appliquée aux réactants III et IV (schéma 8).

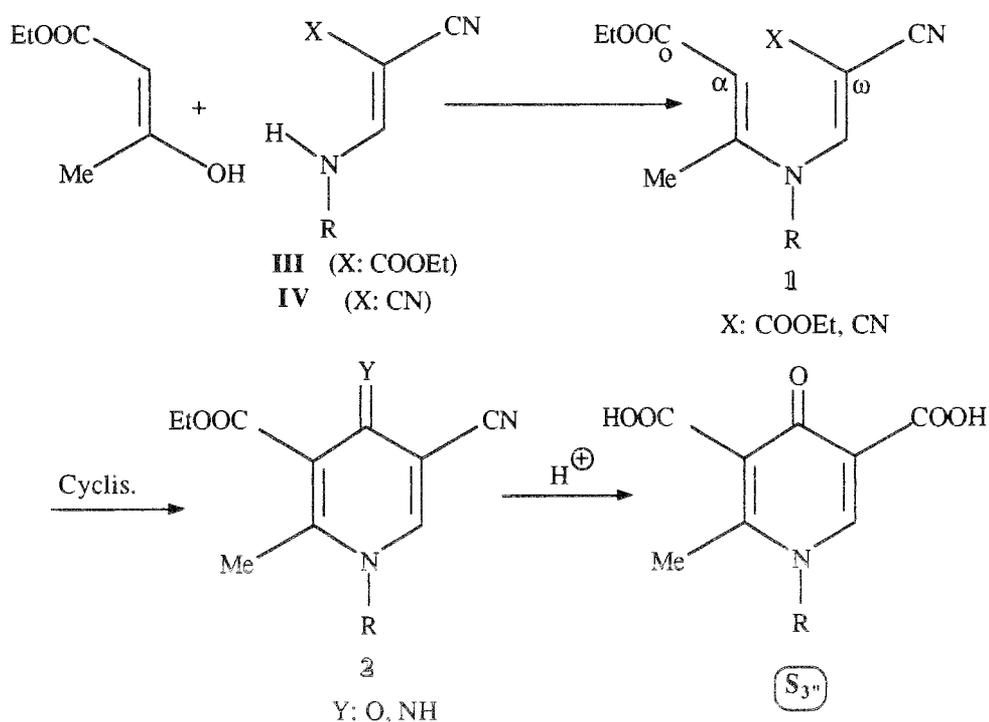
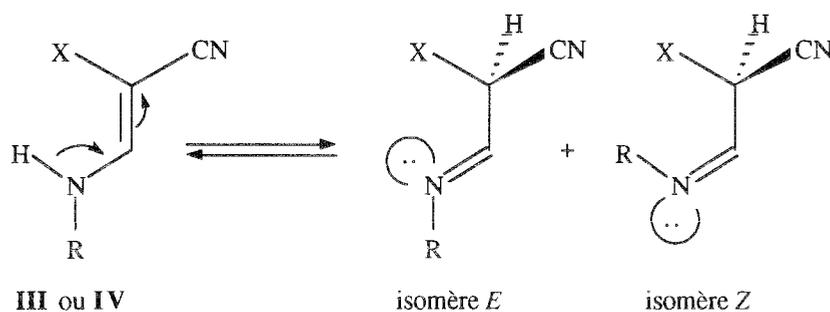


Schéma 8 : Synthèse des dérivés S_{3''}(2)

La méthode consiste à condenser **III** ou **IV** avec un ester β -cétonique (Acétylacétate d'éthyle sous forme énolique) pour obtenir l'ester α -éthylénique ω -cyané ou éthyloxycarbonylé **1**. La cyclisation intramoléculaire thermique de ce dernier conduit respectivement avec X : COOEt par élimination, (-EtOH) au dérivé céto (Y: O) ou avec X : CN par addition de Mickaël, au dérivé cétimine (Y : NH) de la 1,4-dihydropyridine **2**. L'hydrolyse acide de **2** conduit au diacide **S3''** attendu.

Nous avons essayé, en vain, de mettre en oeuvre le protocole précédent (**2**) au départ de **IIIa-g** et de **IVa-e**. En effet :

-d'une part, la faible réactivité des pôles amines secondaires (R: n.Bu, c.Pr, c.Hex,.....) de **III** et **IV**, favorise l'équilibre tautomérique avec la forme imine générant un mélange d'isomères géométriques Z et E. (schéma 9).



-d'autre part les conditions opératoires drastiques de la cyclisation intramoléculaire de **1** en **2**, nécessitent un chauffage à 200-230 °C, durant 3-4 h., au sein du Dowtherm ou encore une température moins élevée 90-100 °C, durant 1-2 h. en présence de catalyseurs (Acide polyphosphorique: P₂O₅/H₃PO₄, ou ses esters; chlorure de phosphoryle: POCl₃,...) (**86**). Nous avons précédemment indiqué que de telles conditions sont susceptibles d'engendrer une décomposition des intermédiaires **2** formés.

Compte-tenu des difficultés rencontrées, nous développerons ci-après uniquement la chimie (voies d'accès, composés obtenus) des produits **III** et **IV**.

2.2.3-Synthèse des esters **III** et nitriles **IV**

2.2.3.1-Principales voies d'accès

Les composés **III** et **IV** peuvent être obtenus respectivement au départ du cyanoacétate d'éthyle et du dinitrile malonique, *via* les intermédiaires éthoxy et aminométhyléniques (*schéma 10*).

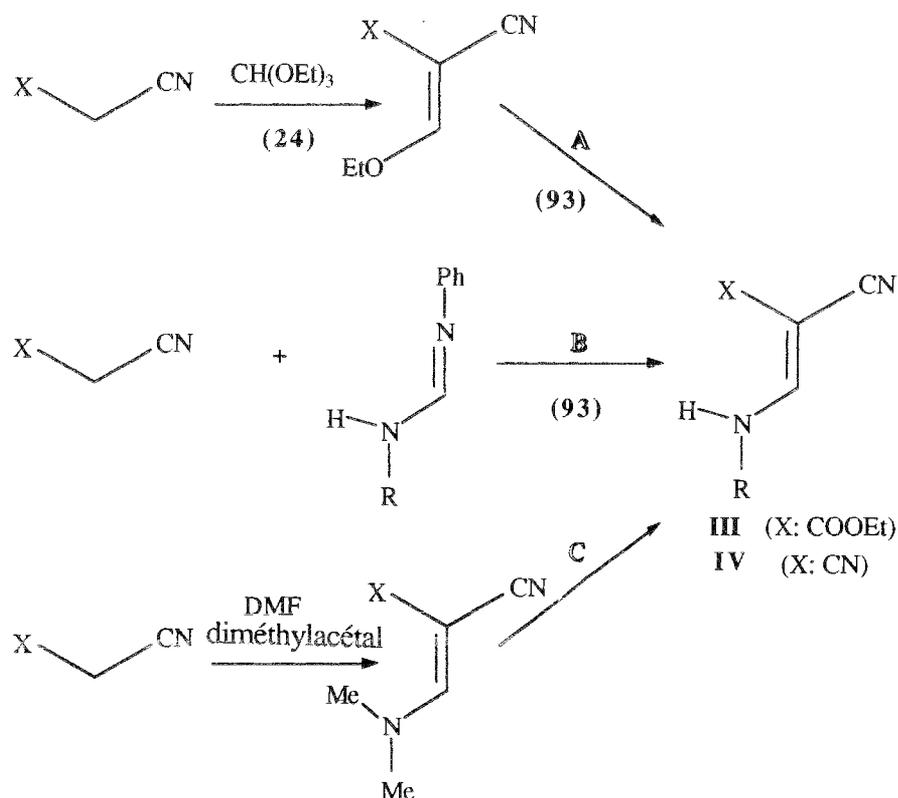


Schéma 10: Principales voies d'accès aux esters **III** et nitriles **IV**.

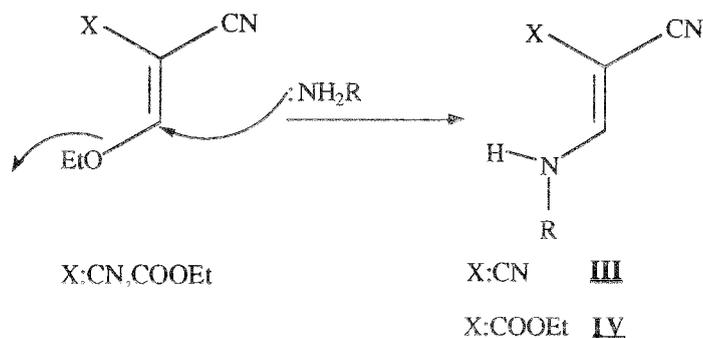
2.2.3.2-Choix des méthodes retenues.

Nous avons choisi d'effectuer la synthèse des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl) aminométhylèncyanoacétates d'éthyle, **IIIa-g**, et des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl)aminométhylènemalononitriles **IVa-e**, en utilisant la méthode de Price et coll. (93). Deux raisons ont dicté notre choix :

-d'une part, la disponibilité commerciale de produits éthoxyméthyléniques : 2-cyano-3-éthoxyacrylate d'éthyle qui donne naissance à **III** et éthoxyméthylènemalonate de diéthyle qui donne naissance à **IV**.

-d'autre part, les bons rendements que cette méthode nous a donnés (50-99 % pour les 7 dérivés **III** et 40-70 % pour les 7 dérivés **IV**).

Le mécanisme réactionnel de cette étape est figuré dans le *schéma 11*.

Schéma 11: Mécanisme de la réaction donnant naissance à **III** et **IV**.

2.2.4-Composés obtenus

Nous avons obtenu les produits **III** et **IV** ci-après (*Tableau XIV* et *XV*).

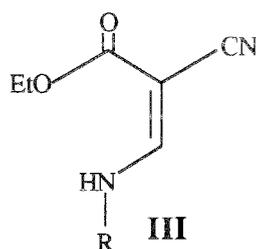


Tableau XIV

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
IIIa	n.Bu	99	cf.p.118	cf.p.119
IIIb	c.Pr	50	"	"
IIIc	c.Hex	72	"	cf.p.120
III d	Bz	61	"	cf.p.121
IIIe	4-F Ph	78	"	"
III f	2-Me,4-HO Ph	63	"	"
III g	1-Napht.	76	"	cf.p.123

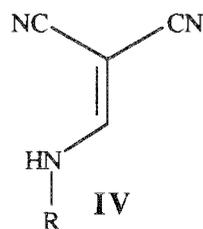


Tableau XV

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
IVa	n.Bu	53	cf.p.123	cf.p.124
IVb	c.Hex	64	"	"
IVc	Bz	68	"	cf.p.125
IVd	4-F Ph	40	"	"
IVe	3-Me Ph	57	"	cf.p.126

2.3-SYNTHESE DE :

5-N-CYCLOHEXYLAMINO-2,4-DICYANOHEXA-
2,4-DIENOATE D'ETHYLE 1a,1b

7-N,N-DIMETHYLAMINO-5-N-CYCLOHEXYLAMINO-
2,4-DICYANOHEPTA-2,4,6-TRIENOATE D'ETHYLE 2

1-N-CYCLOHEXYL-6-N,N-DIMETHYLAMINOVINYL-
2-OXO-1,2-DIHYDROPYRIDINE-3,5-DICARBONITRILE 3

1-N-CYCLOHEXYL-2-OXO-5-HYDROXY-1,2-DIHYDRO-
1,6-NAPHTYRIDINE-3-CARBONITRILE 4

ACIDE 1-N-CYCLOHEXYL-2-OXO-5-HYDROXY-
1,2-DIHYDRO-1,6-NAPHTYRIDINE-3-CARBOXYLIQUE 5

5-AMINO-2,4-DICYANOHEXA-2,4-DIENOATE D'ETHYLE 6

2-AMINO-5-CYANO-6-METHYLPYRIDINE-3-CARBOXYLATE
D'ETHYLE 7

2.3.1-Objectifs pharmacochimiques

L'obtention des dérivés 1 à 7 procède d'une déviation réactionnelle du mécanisme décrit en 1976 par Kuthan et coll.(62,63) pour obtenir, après hydrolyse de l'ester intermédiairement formé, la 1,4-dihydropyridine S3 (schéma 12)

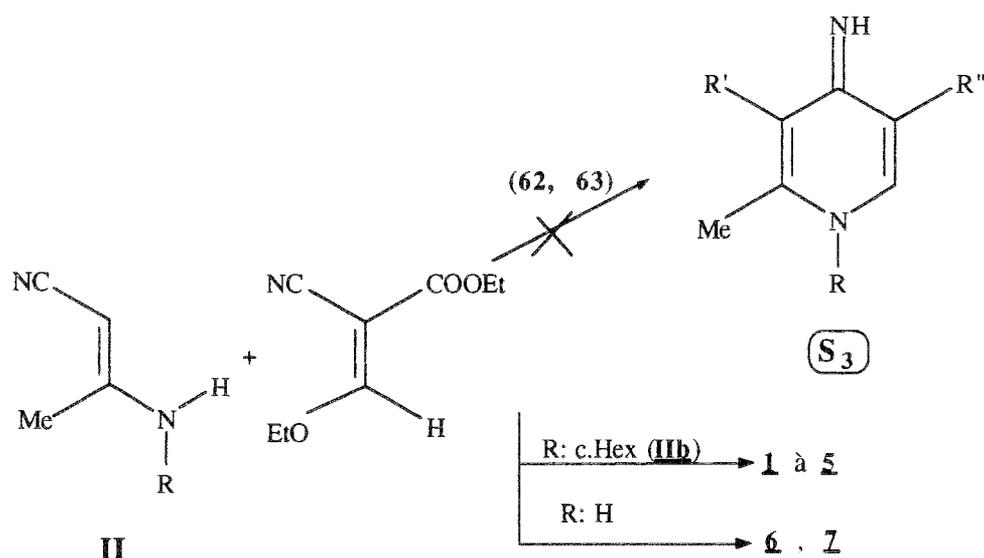


Schéma 12: Produits (1-7) réellement formés par la réaction de Kuthan

Comme nous l'avons précisé antérieurement (cf. p.52), l'intérêt pharmacochimique de la structure S3 réside dans sa position d'intermédiaire clé des méthodes d'obtention de S3', S3'' et S3''' (figure 29), homologues des "monoquinolones" S5, avec lesquelles ils présentent une analogie géométrique et structurale.

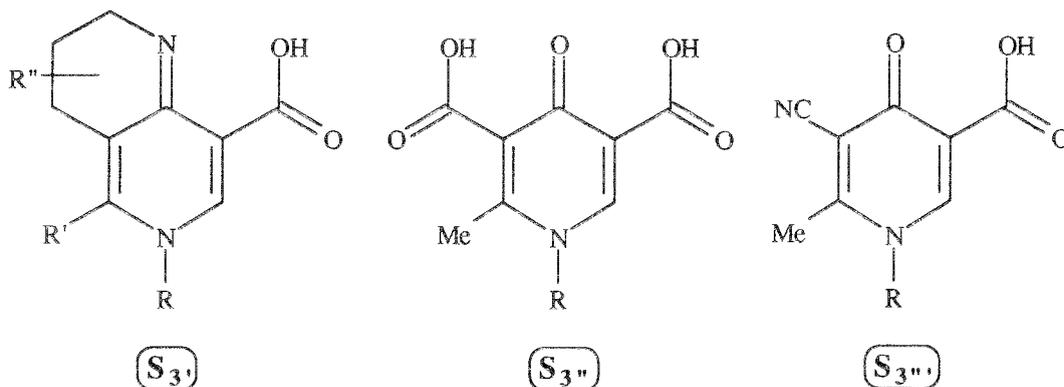


Figure 29: Produits de condensation S_3' ou d'hydrolyse S_3'' et S_3''' envisagés à partir de S_3

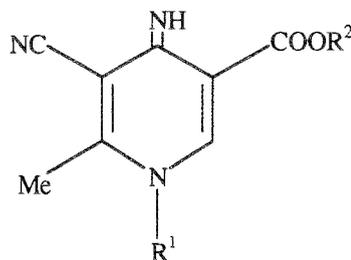
Cette similitude de S_3 et de ses dérivés immédiats (S_3'' - S_3''') avec l'archétype quinolone (mono ou polycyclique) laissait présager, pour ces composés, une potentialité d'inhibition de l'ADN gyrase.

2.3.2-Stratégie de synthèse de S_3

2.3.2.1-Obtention du 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyano-6-méthyl-3,4-dihydropyridin-3(1H)-one **1** au lieu de la dihydropyridimine S_3 attendue

La méthode de Kuthan et coll.(62,63), que nous avons mise en oeuvre, consiste à condenser durant 4 h. le 2-éthoxyméthylèncyanoacétate d'éthyle (EMCAE) avec un 3-N-alcoyl(cycloalcoyl,aryl) aminobut-2-ènenitrile (**II**), au sein du benzène à reflux, additionné de quelques gouttes d'acide acétique. Dans ces conditions, ces auteurs affirment avoir obtenu les esters de l'acide S_3 rapportés dans le *tableau XVI*.

Tableau XVI: Esters de l'acide S_3 ($R^2:H$) obtenus par Kuthan et coll.(62,63)



N°	R ¹	R ²	F°C	Rdt%	RMN ¹ H(ppm)	
					C=CH(s)	NH(m)
a	c.Hex	Me	191-192	81	7,89	6,90
b	c.Hex	Et	163-165	51	7,90	6,80
c	Bz	Me	ND	ND	8,04	9,84
d	Bz	Et	ND	ND	ND	ND

Nous avons scrupuleusement suivi ce mode opératoire et obtenu, au départ du 2-N-cyclohexylaminobut-2-ènenitrile (**IIb**), un dérivé aliphatique **1a** (*schéma 13*) et non le cycle 1,4-dihydropyridinique attendu.

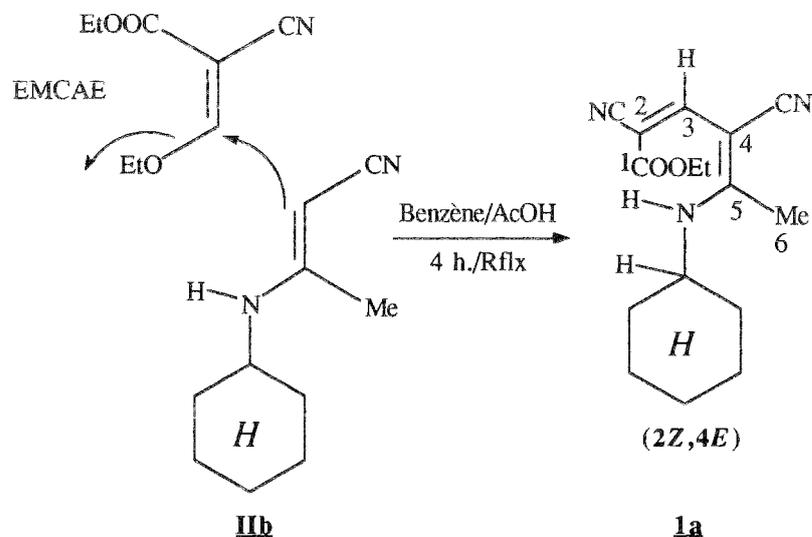


Schéma 13: Dérivé **1a** réellement formé par la réaction de Kuthan

Les spectres RMN de **1a**, (effectués par Heckendorn des laboratoires Ciba-Geigy AG que nous remercions très vivement), montrent sans ambiguïté que la structure assignée par Kuthan au produit N° b, présenté dans le *tableau XVI*, ne correspond pas à la réalité.

En effet, dans le spectre RMN ^1H (500 MHz/ CDCl_3) de **1a**, nous observons un doublet à 6,65-6,75 ppm ($j=8$ Hz) qui se transforme en un singulet (6,70 ppm) quand on irradie à 3,6 ppm. Ceci est en faveur d'une structure acyclique dans laquelle le groupement -NH est couplé avec l'atome d'hydrogène fixé sur le carbone nucléaire adjacent au noyau cyclohexanique. D'autre part, le spectre RMN ^{13}C (CDCl_3) confirme que **1a** est effectivement porteur de deux groupements nitrile. (cf. partie expérimentale / p.126).

Des travaux, récemment publiés par Cocco et coll.(21,22), sont en faveur de cette proposition. Le *schéma 14* qui rapporte cette recherche, montre que le produit **1** a subi l'arrachement de l'atome d'hydrogène géminé au groupement X et que le produit **2** résultant donne naissance, par cyclisation intramoléculaire, aux pyridines fonctionnalisées **3**, **4**, **5** et **6**.

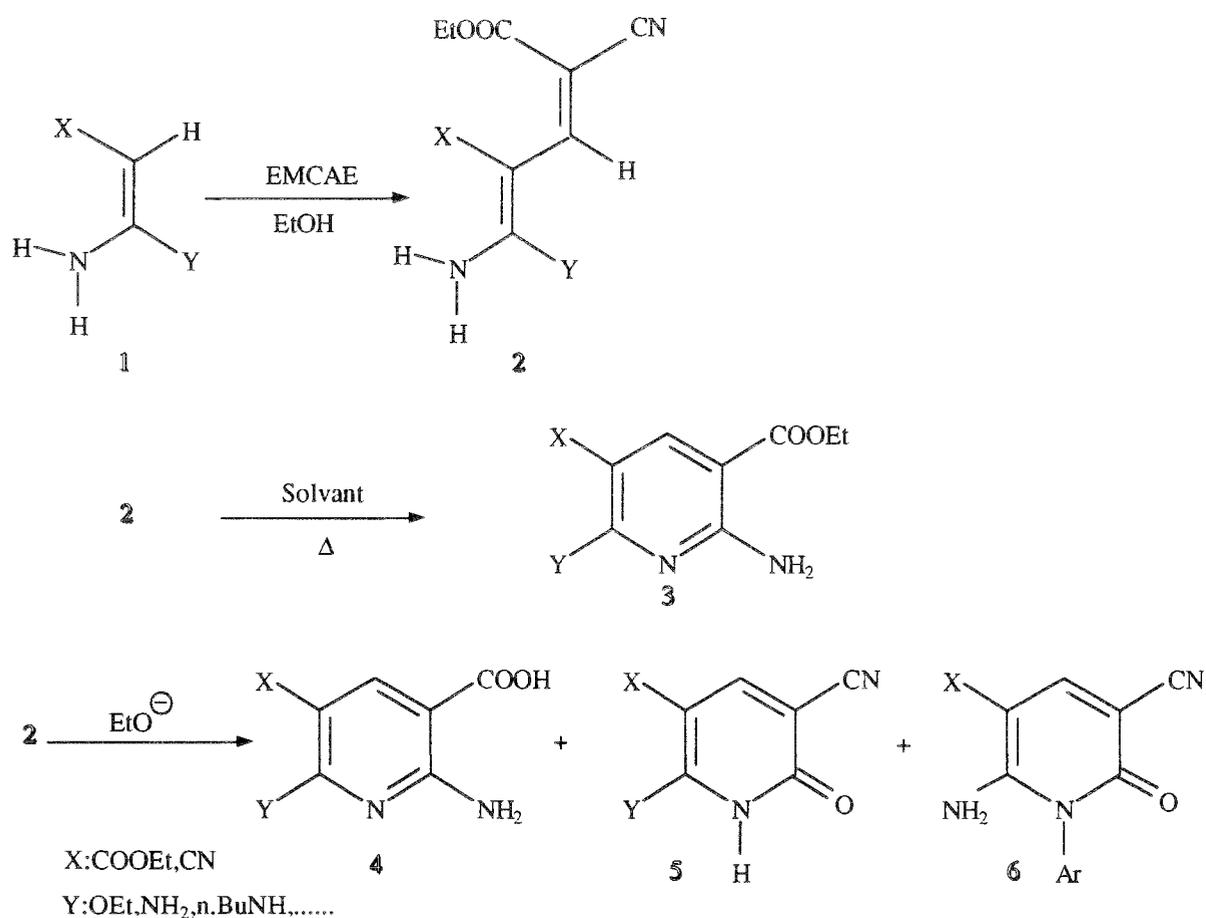


Schéma 14: Obtention de l'intermédiaire acyclique **2** dans le plan de synthèse des pyridines fonctionnalisées **3-6** .(21,22)

L'isomère géométrique **1b** a été obtenu par simple reflux de **1a** avec la 1-(2,2-diéthoxyéthyl)pipéridine au sein du DMF. Nous indiquons dans le *tableau XVII* les caractéristiques physico-chimiques différentielles des produits C₁₆H₂₁N₃O₂.

Tableau XVII: Comparaison des propriétés des produits C₁₆H₂₁N₃O₂ obtenus par Kuthan (**62,63**) et nous-mêmes.

	Kuthan	1a	1b
Etat	-	cristaux roses	poudre jaune
F°(C)	163-165	179	115
SM	205(100%);133(34%);5	205(100%);133(60,7%);41(43%);	
(abond.rel.%)	5(28%);160(23%);159	55(30%);160(18,5);79(18,5%);	
Mr:287	(15%);132(15%);	67(18,5%);105(14,6%);177(11,5%);117(
	54(13%);82(12%);	7%);287(5,4%);	
	287(3%)	90(5,4%);272(3%);258(3%)	

En conclusion, il apparaît évident que le produit décrit par Kuthan ne correspond pas à la structure cyclique **S3** (sous forme d'ester éthylique).

Après avoir ainsi confirmé la structure de **1a**, nous nous sommes attachés à définir sa stéréochimie. Le 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle **1** peut, en effet, adopter quatre configurations selon la disposition relative des substituants éthyléniques (*figure 30*).

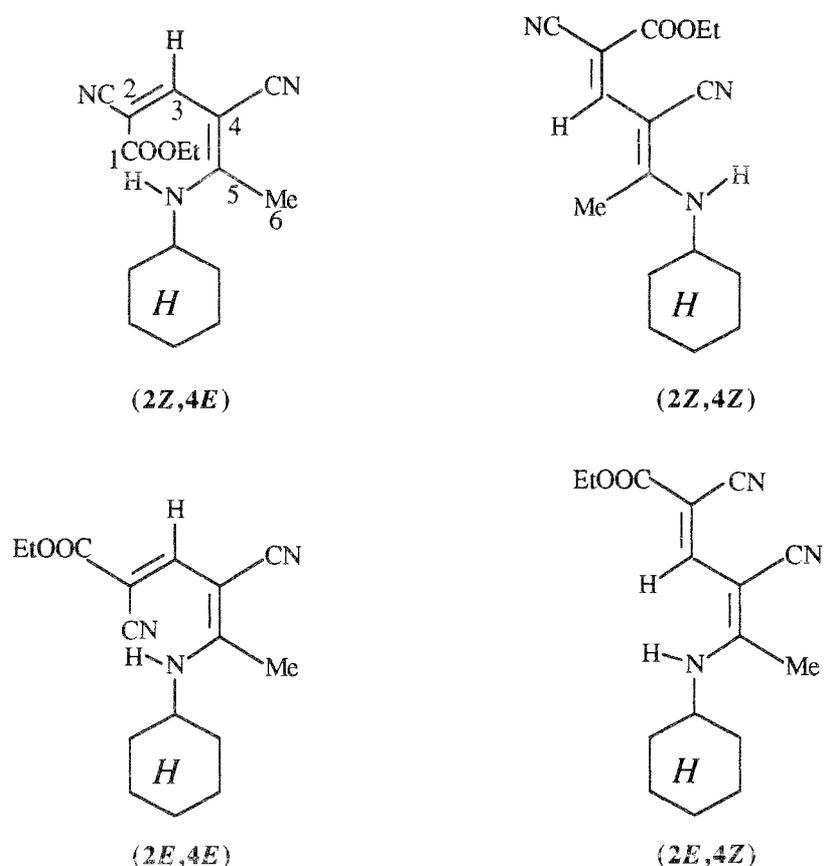


Figure 30: Les stéréo-isomères du 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle.

Le RMN (^1H et ^{13}C) ne permet pas d'assigner d'emblée une configuration au composé **1a** obtenu, nous proposons, pour ce dernier, la configuration (2Z,4E) pour les raisons suivantes :

♦ les configurations *cis* : (2Z,4E; 2E,4E) sont thermodynamiquement favorisées car elles présentent des interactions électroniques et stériques entre les groupements $\text{COOEt}_{(1)}/\text{CN}_{(4)}$ ou $\text{CN}_{(2)}/\text{CN}_{(4)}$ moins fortes que dans les stéréoisomères *trans* (2Z,4Z ; 2E,4Z).

♦ le choix parmi les 2 configurations précédentes de la structure (2Z,4E) attribué à **1a** procède, tout d'abord, de la stabilité de cette configuration apportée par une liaison hydrogène entre l'amine et l'ester voisin. D'autre part, la cyclisation intramoléculaire de **1a** en α -pyridone **3** (cf. schéma 15, p.72) est sans conteste en faveur de cette proposition.

Quant au stéréoisomère **1b**, nous proposons en première analyse de lui assigner la configuration (2Z,4Z) résultant d'une rotation autour de la liaison C3-C4.

2.3.2.2-Valorisation de **1** : Synthèse de l'acide 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique **5**

Ce composé **5** (figure 31) est l'isomère en série 2-pyridone des quinolones **A** de structure 1,6-naphtyridine, dont Strehlke (**114**) a mis en évidence l'intéressante activité antimicrobienne (CMI: 6,3 mg/l / *E.coli*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*). Rappelons que la série 1,8-naphtyridine a donné à la thérapeutique l'acide nalidixique **B** (Negram®), chef de file des quinolones.

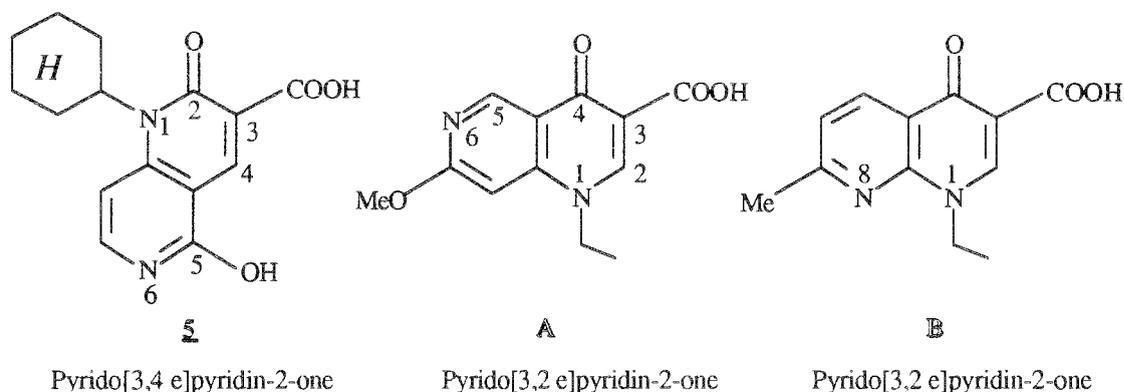


Figure 31 : Analogie structurale de **5** avec les quinolones de structure naphtyridine.

Ce composé est obtenu selon le plan de synthèse présenté dans le schéma 15 ci-après.

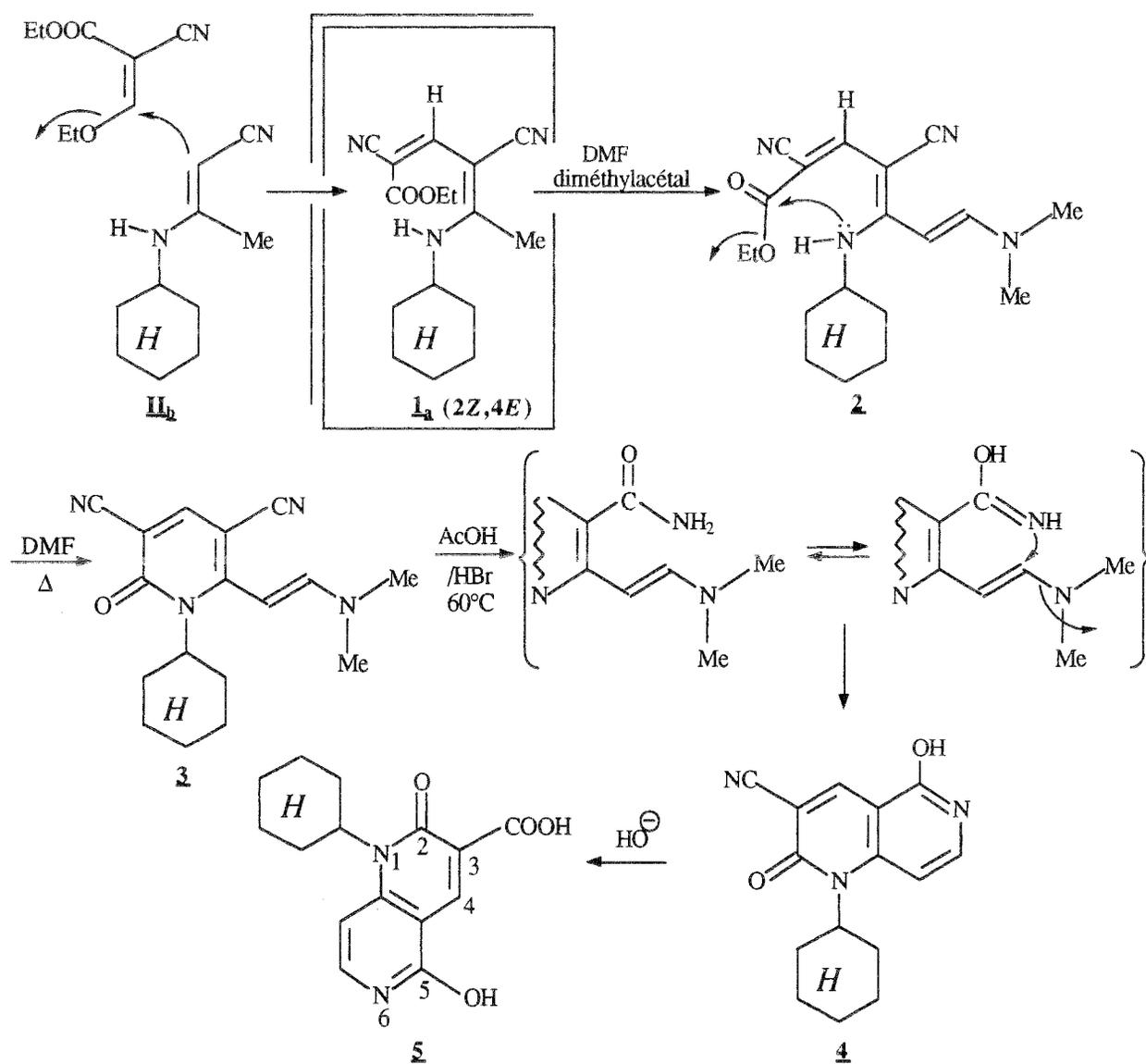


Schéma 15 : Plan de synthèse de l'acide 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphthyridine-3-carboxylique **5**, au départ de **1a**.

2.3.2.21-Synthèse de 7-*N,N*-diméthylamino-5-*N*-cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4,6-triènoate d'éthyle 2

La réactivité du groupement méthyle de **1a** est mise à profit pour une condensation avec la 1,1-diméthoxytriméthylamine au sein du DMF à reflux. Le produit diméthylaminovinyle **2** est obtenu avec un rendement de 62%. Les spectres de RMN ¹H, de ¹³C, d'IR et l'analyse élémentaire sont en faveur de la structure avancée.

2.3.2.22-Synthèse de 1-*N*-cyclohexyl-6-*N,N*-diméthylaminovinyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile 3

Le simple chauffage à reflux d'une suspension du produit **2**, dans le DMF pendant 1 h., engendre la cyclisation intramoléculaire qui conduit au produit **3** avec un rendement de 49%. La formation de ce cycle pyridin-2-one ne peut se concevoir qu'au départ d'une configuration (2*Z*, 4*E*) du produit de départ **1a** ce qui confirme notre interprétation précédente.

2.3.2.23-Synthèse de 1-*N*-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile 4

En mettant en oeuvre la méthode de cyclisation des ènamines de Baldwin et coll.(67',68'), par chauffage à 60°C de **3** avec un mélange d'acide acétique et d'acide bromhydrique, nous avons obtenu le produit bicyclique **4**, avec un rendement de 79%.

2.3.2.24-Synthèse de l'acide 1-*N*-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique 5

L'hydrolyse du nitrile **4**, par reflux au sein d'une solution d'hydroxyde de potassium puis acidification à pH:7 à l'aide d'acide chlorhydrique, fournit l'acide **5** correspondant avec un rendement de 77% .

2.3.2.3-Synthèse d'analogues non substitués de 1 :

Obtention de 5-amino-2,4-dicyanohepta-2,4-diènoate d'éthyle 6

Obtention de 2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle 7

La condensation du 3-aminocrotononitrile avec l'EMCAE dans des conditions opératoires voisines de celles qui nous ont permis d'obtenir **1a**, devait nous permettre d'accéder à l'analogue non substitué de ce dernier (*schéma 16*). L'absence de substituant (c.Hex.) sur le pôle aminé et le protocole utilisé conduisent au stéréoisomère **6** (2*E*,4*E*). Pour justifier la structure inattendue de ce dérivé, nous avons réalisé sa cyclisation intramoléculaire en 2-aminonicotinate d'éthyle **7**. La présence d'un singulet (δ : 8,25 ppm) et le déplacement chimique de NH₂ (δ : 7,95 ppm) confirment la structure pyridinique proposée.

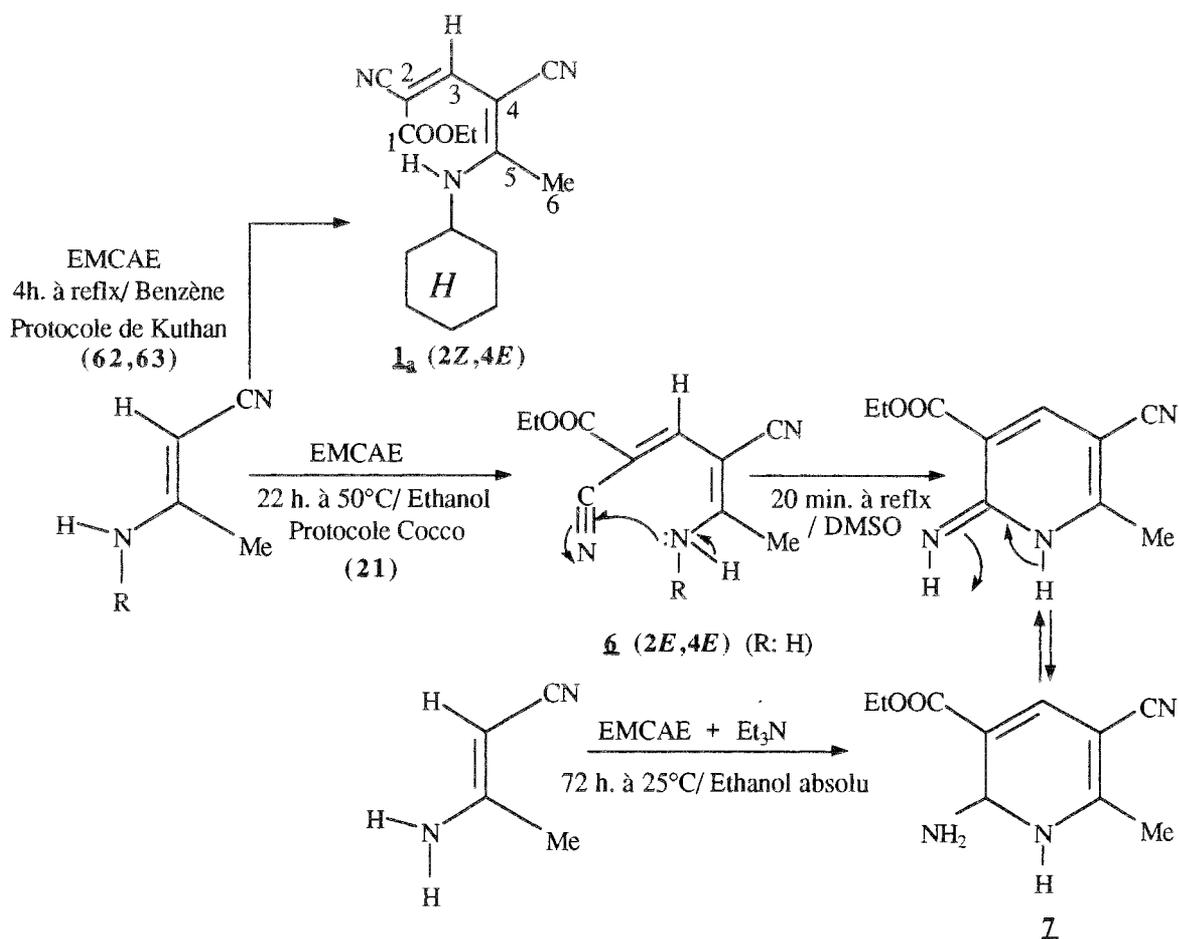


Schéma 16: Obtention de l'isomère **6** (2E,4E) de **1** avec R: H, qui par cyclisation intramoléculaire conduit au dihydronicotinate d'éthyle **7**.

Ce plan de synthèse du 2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle **7** présente les 2 voies d'accès que nous avons mises en oeuvre pour obtenir **7** dont les rendements sont respectivement de 30% (via l'intermédiaire **6**) et de 8% directement au départ de **1** (R:H).

2.3.3-Composés obtenus

Nous avons rassemblé dans le *tableau XVIII*, les principales données (formules/schémas 15-p.72 et 16-p.74) des produits 1-7 obtenus.

Tableau XVIII

N°	Formule	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
<u>1a</u>	cf.p.72	63	cf.p.126	cf.p.127
<u>1b</u>	cf.p.129	57	cf.p.128	cf.p.129
<u>2</u>	cf.p.72	62	cf.p.129	cf.p.130
<u>3</u>	cf.p.72	49	cf.p.131	cf.p.132
<u>4</u>	cf.p.72	79	cf.p.134	cf.p.134
<u>5</u>	cf.p.72	77	cf.p.135	cf.p.135
<u>6</u>	cf.p.72	56	cf.p.136	cf.p.136
<u>7</u>	cf.p.72	30	cf.p.137	cf.p.137

2.4-SYNTHESE DES :

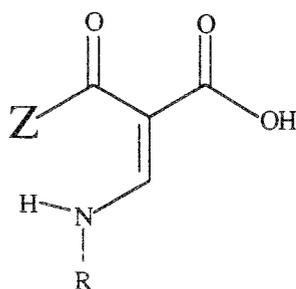
N,N-DIMETHYLAMINOMETHYLENEACYLACETATES D'ETHYLE 8, 9, 10

N-CYCLOALCOYL(ARALCOYL,ARYL)AMINOMETHYLENEACYLACETATES D'ETHYLE V_{a-v}

ET DES ACIDES N-(4-FLUOROPHENYL) AMINOMETHYLENEACYLACETIQUES 11 et 12

2.4.1-Objectif pharmacochimique.

Les acides 11,12 et les esters 8 - 12 et V_{a-v} répondent (ou dérivent de) à la structure générale **S₄** (*figure 32*) dont l'intérêt pharmacochimique est double.



Z: Me, Ph, 4-O₂N Ph

R: c.Pr, c.Hex, Bz, 4-F Ph, 4-t.Bu Ph, 2-OH 4-Me Ph,

Figure 32 : Structure S₄

En effet, la potentialité antibiotique de la structure **S4** est inscrite dans le squelette aminométhylèneacétylétique notamment par la présence :

- de l'enchaînement fonctionnel β -dicarboxylé, vecteur d'une activité antibactérienne.
- du profil "quinolone ouverte" (open-drug).

2.4.11-Enchaînement fonctionnel β -dicarboxylé : ester ou acide β -cétonique

L'activité antibactérienne de composés bifonctionnels de ce type (esters acétylacétiques) a été démontrée dans notre laboratoire (**111**) à l'égard des germes à Gram-négatif (*S.aureus*,.....), des bacilles acido-alcool résistants (B.a.a.r: *M.tuberculosis*, souches H37Rv et B.C.G,....) et de certaines de leurs hydrazidones (**112**) utilisées en thérapeutique. Le fondement de cette recherche est la création d'un pouvoir antagoniste (inhibition de la respiration bactérienne) par modification structurale du motif "salicylique" qui augmente considérablement la consommation d'oxygène des B.a.a.r (*figure 33*).

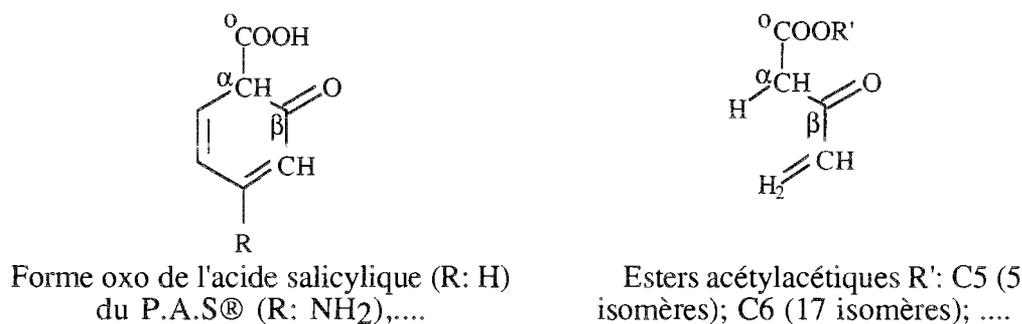
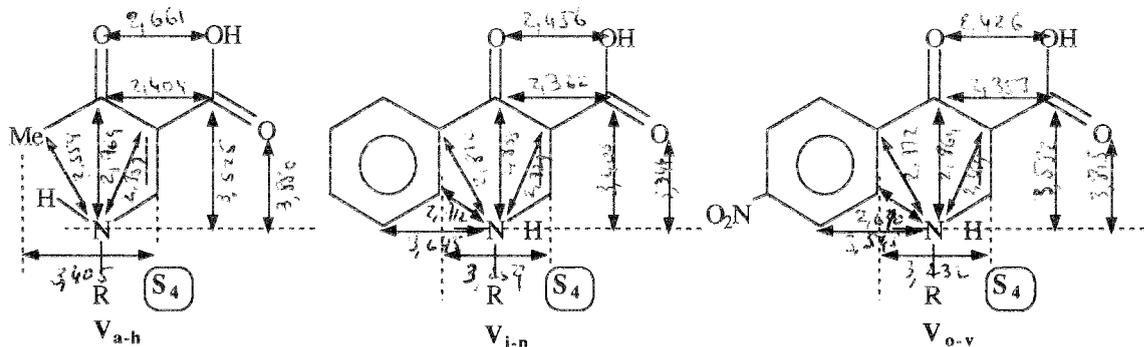


Figure 33 : Analogie structurale: agoniste (effet salicylique);
antagoniste (ester β -cétonique)

2.4.12-Profil "quinolone ouverte"

L'analogie de géométrie moléculaire des quinolones, avec la structure qui est acceptable lorsque le substituant Z est du type CH₃ (**S41**), devient moins bonne lorsque Z est un cycle benzénique (**S42** et **S43**). En effet, la distance interatomique (**d**) entre l'atome d'azote et l'atome de carbone vicinal (commun aux cycles A et B en série quinolone) est assez dissemblable: **d_{quinolone}** = 1,353 Å; **d_{S42}** = 2,412 Å; **d_{S43}** = 2,670 Å. La *figure 34* précise la géométrie de ces analogues ouverts de "monoquinolones" (**d_{S5}** = 1,307 Å).



Energie (Kcal/mol.)

E.totale: 7.6

Eliaison: 0,6; Eangle: 3,7
Etorsion: 0,0; Eoop: 0,0;
Evdw: 3,3

Energie (Kcal/mol.)

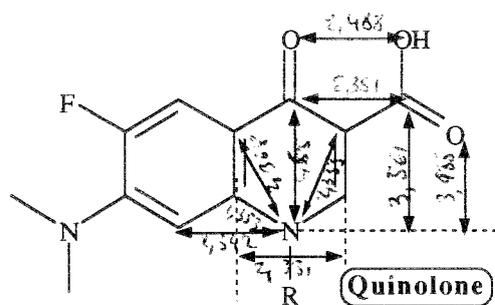
E.totale: 16.6

Eliaison: 3,1; Eangle: 3,5
Etorsion: 4,8; Eoop: 0,0;
Evdw: 5,2

Energie (Kcal/mol.)

E.totale: 10.6

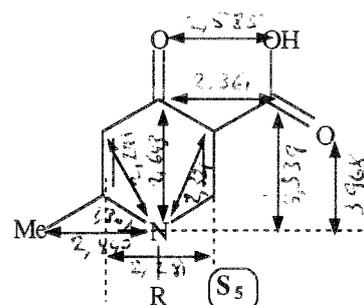
Eliaison: 0,6; Eangle: 3,1
Etorsion: 4,4; Eoop: 0,1;
Evdw: 2,5



Energie (Kcal/mol.)

E.totale: 4.0

Eliaison: 0,5; Eangle: 1,4
Etorsion: 0,0; Eoop: 0,0; Evdw: 2,1



Energie (Kcal/mol.)

E.totale: 5.2

Eliaison: 0,5; Eangle: 0,8
Etorsion: 0,0; Eoop: 0,0; Evdw: 3,8

Figure 34: La géométrie des analogues ouverts de "monoquinolones"

2.4.2-Stratégie de synthèse

2.4.2.1-Principales voies d'accès à la structure S₄

La structure acide α -énamino- β -cétonique S₄ peut être construite par deux voies de synthèse (A et B) présentées dans le schéma 17.

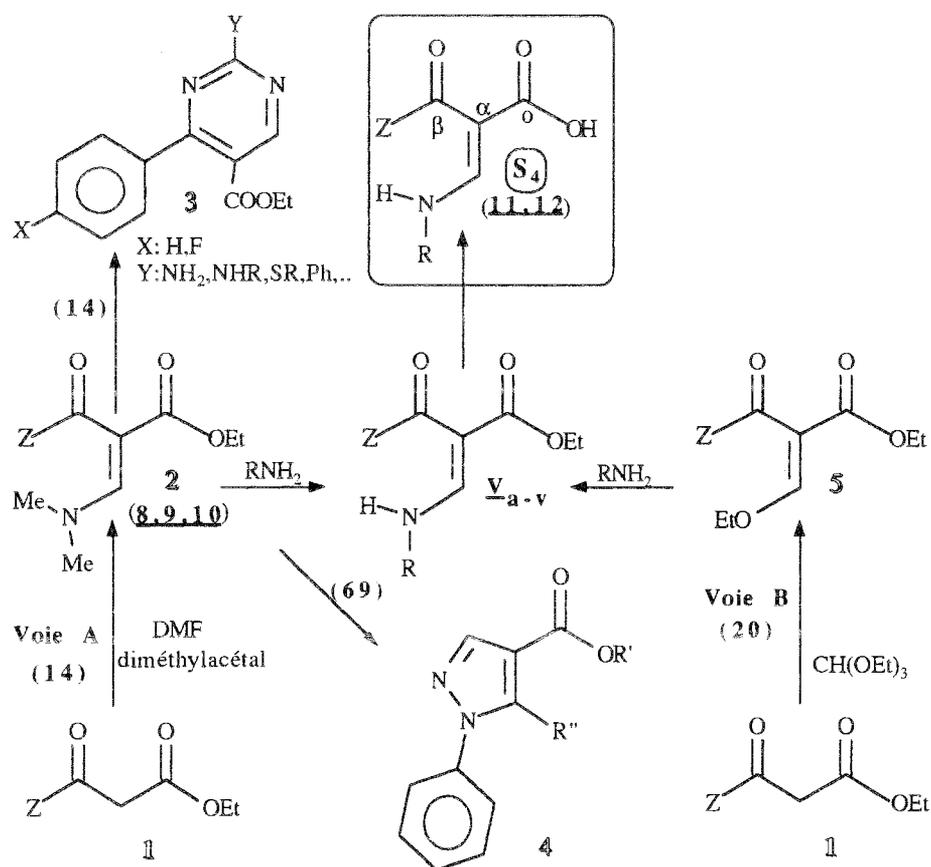


Schéma 17: Voies d'accès à la structure générale S₄

Les énaminones **2**, résultant de l'action (voie A) du diméthylformamide diméthylacétal (DMF diméthylacétal) sur un acylacétate d'éthyle **1**, constituent, depuis les travaux de Breaux (**14**) et de Menozzi (**69**) en 1987, les produits intermédiaires de la synthèse en une ou deux étapes d'hétérocycles azotés hexa- ou penta-atomiques particulièrement intéressants. En effet, l'intermédiaire **2** (Z: Ph, 4-F Ph), condensé avec une amidine H₂N(NH)C:Y, au sein de l'éthanol à reflux (**14**), fournit les pyrimidines **3** alors que traité par la phénylhydrazine (**69**), il conduit aux pyrazole-4-carboxylates d'alcyle (Me, Et) -1,5-disubstitués **4**. La mise à profit du caractère nucléofuge (7,120) du groupement N,N-diméthylamino de **2** nous permet d'accéder aux esters N-monosubstitués **V** dont l'hydrolyse donne naissance aux acides correspondants S₄.

Signalons que les esters **V** peuvent également être obtenus (voie **B**) par substitution nucléophile du C_{sp^2} du dérivé éthoxyméthylénique **5**, lui même formé par condensation de l'acétylacetate d'éthyle **1** avec le triéthoxyméthane, au sein de l'anhydride acétique à reflux (**20**).

2.4.2.2-Choix des méthodes retenues et plan de synthèse

Nous avons choisi de réaliser la synthèse des *N,N*-diméthylaminométhylèneacétylacetates d'éthyle **2** (schéma 18) en mettant en oeuvre les méthodes de Menozzi (**69**) et de Breaux (**14**), compte-tenu des excellents rendements qu'elles fournissent. Ainsi, les énaminones **8**, **9**, **10** sont obtenues en opposant l'acétylacetate d'éthyle correspondant (Z: Me, Ph, 4-O₂N Ph) à un excès de 1,1-diméthoxytriméthylamine au sein du benzène. Les produits obtenus avec un rendement voisin de 90 % sont présentés dans le tableau XIX.(p. 80)

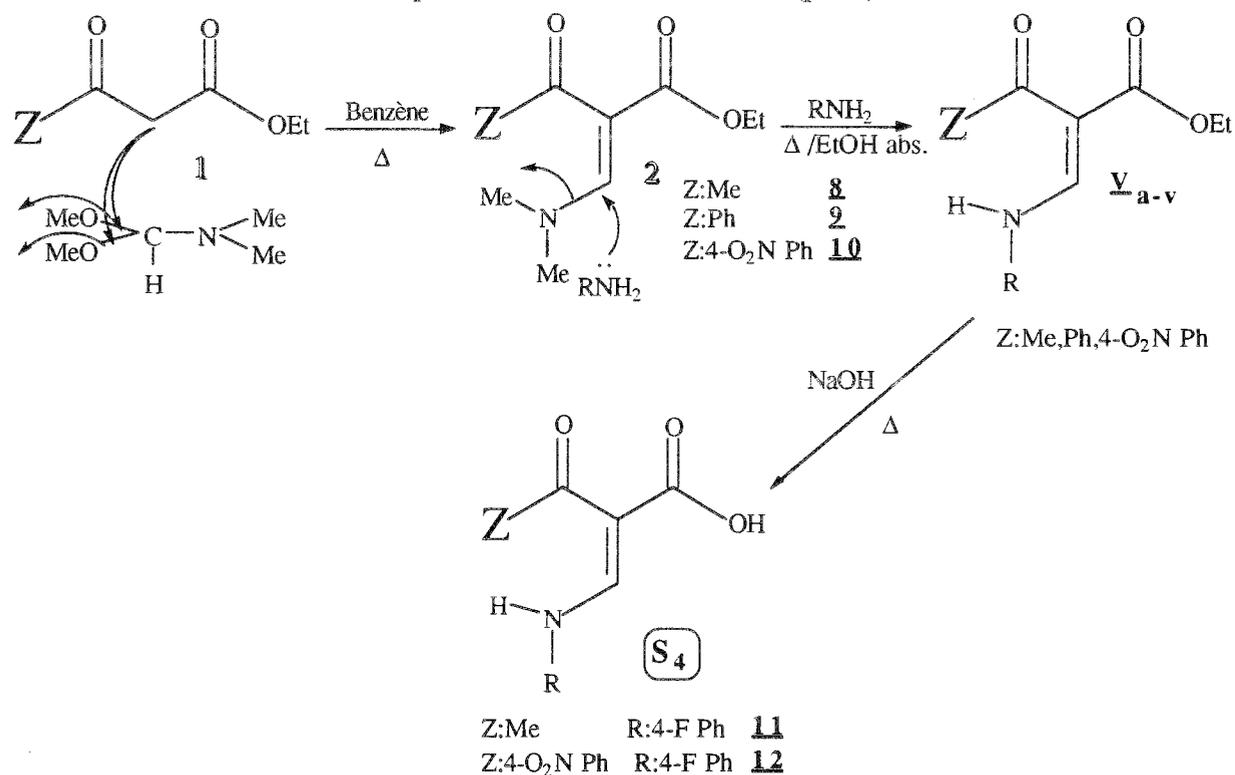


Schéma 18: Plan de synthèse des produits **8**, **9**, **10**, **11**, **12** et **V_{a-v}**

Les *N*-cycloalcoyl(aralcoyl,aryl)aminométhylèneacétylacetates d'éthyle **V_{a-v}** ont été obtenus en adaptant la méthode de Balogh et coll.(7), proposée par ces auteurs pour la synthèse de 1,6-naphtyridine. C'est ainsi, qu'en chauffant à reflux durant 15 h. au sein de l'alcool absolu les dérivés diméthylamino **8,9** et **10** avec une amine primaire, nous obtenons les produits **V_{a-v}** attendus avec des rendements variant entre :

- ◆ 52 et 85% pour Z : Me (Tableau XX -p. 80)
- ◆ 40 et 97% pour Z : Ph (Tableau XXI -p. 80)
- ◆ 75 et 98% pour Z : 4-O₂N Ph (Tableau XXII -p. 81)

Les acides N-(4-fluorophényl)aminométhylèneacétate **11** et **12** (Tableau XXIII) sont obtenus par saponification des esters **V_d** (N-4-fluorophénylaminométhylèneacétate d'éthyle) et **V_r** (N-4-fluorophénylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle) correspondants. Par contre, nous avons traité de la même manière les autres esters mais, malheureusement, sans obtenir les acides correspondants qui sont instables et non isolables, ce qui est habituel avec les acides β -cétoniques.

2.4.3-Composés obtenus

Nous avons rassemblé dans les *tableaux XIX à XXIII* les dérivés synthétisés.

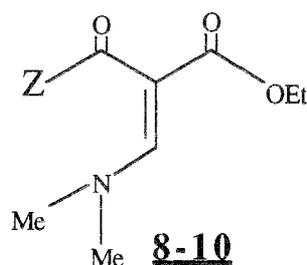


Tableau XIX

N°	Z	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
8	Me	99	cf.p.138	cf.p.138
9	Ph	92	"	"
10	4-O ₂ N Ph	82	"	cf.p.139

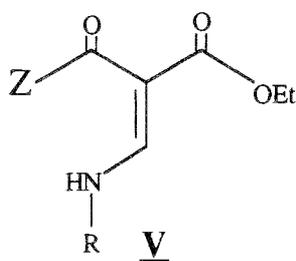


Tableau XX

N°	R	Z	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
V_a	c.Pr	Me	76	cf.p.140	cf.p.140
V_b	c.Hex	Me	85	"	cf.p.141
V_c	Bz	Me	80	"	"
V_d	4-F Ph	Me	63	"	cf.p.142
V_e	4-t.Bu Ph	Me	52	"	cf.p.143
V_f	2-HO 4-Me Ph	Me	80	"	"
V_g	2-Me 4-HO Ph	Me	73	"	cf.p.144
V_h	1-Napht.	Me	74	"	cf.p.145

Tableau XXI

N°	R	Z	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
<u>V_i</u>	c.Pr	Ph	89	cf.p.140	cf.p.146
<u>V_j</u>	c.Hex	Ph	91	"	"
<u>V_k</u>	Bz	Ph	97	"	cf.p.147
<u>V_l</u>	4-F Ph	Ph	40	"	cf.p.148
<u>V_m</u>	4-t.Bu Ph	Ph	90	"	"
<u>V_n</u>	2-HO 4-Me Ph	Ph	66	"	cf.p.149

Tableau XXII

N°	R	Z	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
<u>V_o</u>	c.Pr	4-NO ₂ Ph	93	cf.p.140	cf.p.150
<u>V_p</u>	c.Hex	4-NO ₂ Ph	93	"	"
<u>V_q</u>	Bz	4-NO ₂ Ph	90	"	cf.p.151
<u>V_r</u>	4-F Ph	4-NO ₂ Ph	98	"	cf.p.152
<u>V_s</u>	4-t.Bu Ph	4-NO ₂ Ph	79	"	"
<u>V_t</u>	2-HO 4-Me Ph	4-NO ₂ Ph	95	"	cf.p.153
<u>V_u</u>	2-Me 4-HO Ph	4-NO ₂ Ph	92	"	cf.p.154
<u>V_v</u>	1-Napht.	4-NO ₂ Ph	75	"	cf.p.155

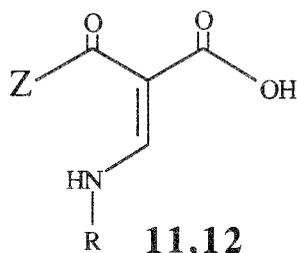


Tableau XXIII

N°	R	Z	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
<u>11</u>	4-F Ph	Me	9	cf.p.155	cf.p.156
<u>12</u>	4-F Ph	4-O ₂ N Ph	97	"	"

2.5-SYNTHESE DE :

3-N,N-DIMETHYLAMINOMETHYLENE-4-OXO-6-METHYL-2-PYRONE 13

3-N-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARYL)AMINOMETHYLENE-4-OXO-6-METHYL-2-PYRONES 14 - 40

ACIDES 1-ALCOYL(CYCLOALCOYL,ARYL)-4-OXO-6-METHYL-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUES. VI_{a-s} (struct.S5)

2.5.1-Objectifs pharmacochimiques

Par leur structure cyclique, les dérivés **S5** constituent une étape-clé de notre objectif de recherche. A cet effet, rappelons brièvement les classiques relations "structure - activité", régissant la pharmacochimie des quinolones: ortho ou ortho et péri-condensation.

-d'un cycle [A]: acide 1,4-dihydro-4-oxonicotinique (non pharmacomodulable, si l'on accepte la substitution de l'atome d'azote nucléaire et la fonctionnalisation du carboxyle, sous forme de sel d'ammonium avec le pôle 2-aminothiazolye d'une céphalosporine de 3ème génération) (**15**).

-avec un cycle aromatique [B]: benzénique (ou ses isostères pyridiniques ou pyrimidiques) substitué en positions 6 par un atome de fluor et en 7 par un pôle aminé. Toutes les oxacines introduites en thérapeutique depuis 1965 (Acide nalidixique) (Ciprofloxacine cf. *Tableau II* p.18) et celles en cours de développement (rassemblées dans le *tableau IV* p. 20-22) sont fondées sur cette architecture polycyclique. Il était donc intéressant :

-Sur le plan conceptuel, de s'assurer ou non qu'une structure monocyclique pouvait présenter un intérêt pharmaco-clinique et, ainsi, ouvrir le cas échéant, une nouvelle voie de recherche en antibiothérapie comme le sont les monobactames par rapport aux β -lactamines (penicillines et céphalosporines). En terme de géométrie moléculaire, la structure **S5** présente les deux caractéristiques suivantes:

- d'une part, une similitude structurale (distances interatomiques, angles de valence, conformation) avec les quinolones ainsi qu'il apparaît dans la *figure 35* ci-après.

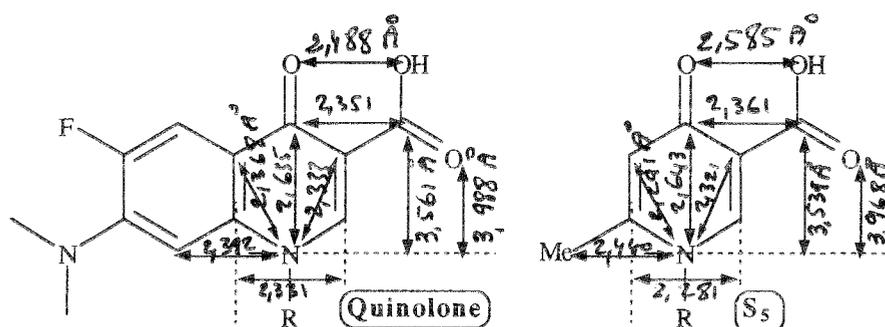


Figure 35: Géométrie moléculaire comparée des "monoquinolones" et des quinolones polycycliques.

-d'autre part, un "ensemble" de 3 groupements fonctionnels (oxoquinonique, carboxyle, ènamine) liés entre eux au sein d'un système sur lequel ont été calculés dans notre laboratoire (67), les effets à courte (répulsion, dispersion) et longue distance (polarisation) du ou des cycles [B et C] associés.

-Sur le plan chimique, il apparaissait intéressant de développer la chimie et d'optimiser un plan de synthèse du squelette 1,4-dihydro-4-oxopyridine-3-carboxylique **S5**. En effet, la création de ce cycle [A] ne peut faire appel aux méthodes habituelles de synthèse des quinolones, lesquelles élaborent ce noyau au départ d'une arylamine (cycle B) dont les sommets en ortho permettent la formation du cycle A, par cyclisation intramoléculaire avec le carbonyle voisin, conduisant à un mélange d'isomères **1** et **2**. (schéma 19).

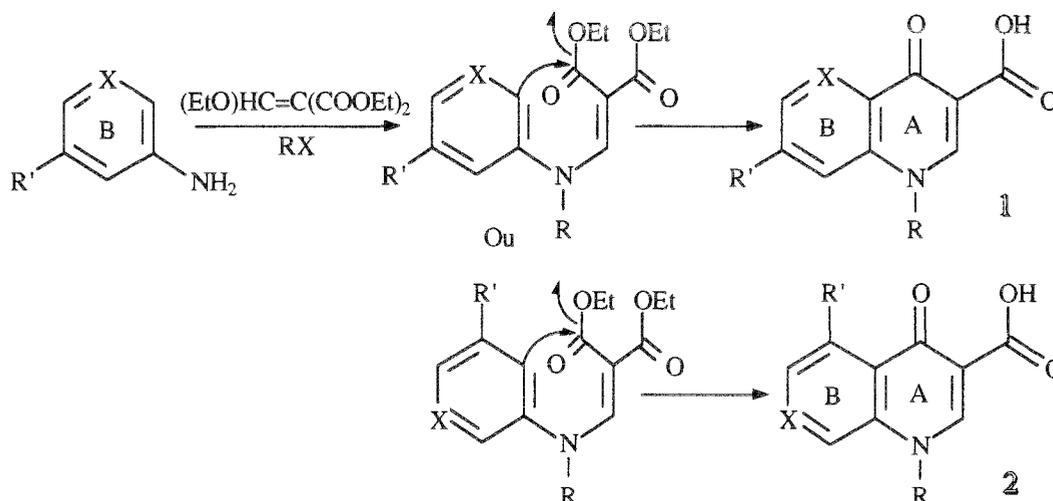


Schéma 19: Création du noyau A des quinolones selon Gould et Jacob (45).

-Sur le plan de l'activité antibactérienne, les travaux de Narita (80 - 83), dans cette série, autorisent incontestablement certains espoirs (cf. *Tableau VII* p. 29) en raison des CMI particulièrement basses à l'égard des germes à Gram-positif (*S.aureus spp.* / CMI (mg/l): 0,05-0,7), d'une toxicité moindre que les quinolones polycycliques, notamment au niveau du système nerveux cérébral, ce qui devrait se traduire par moins d'effets indésirables.

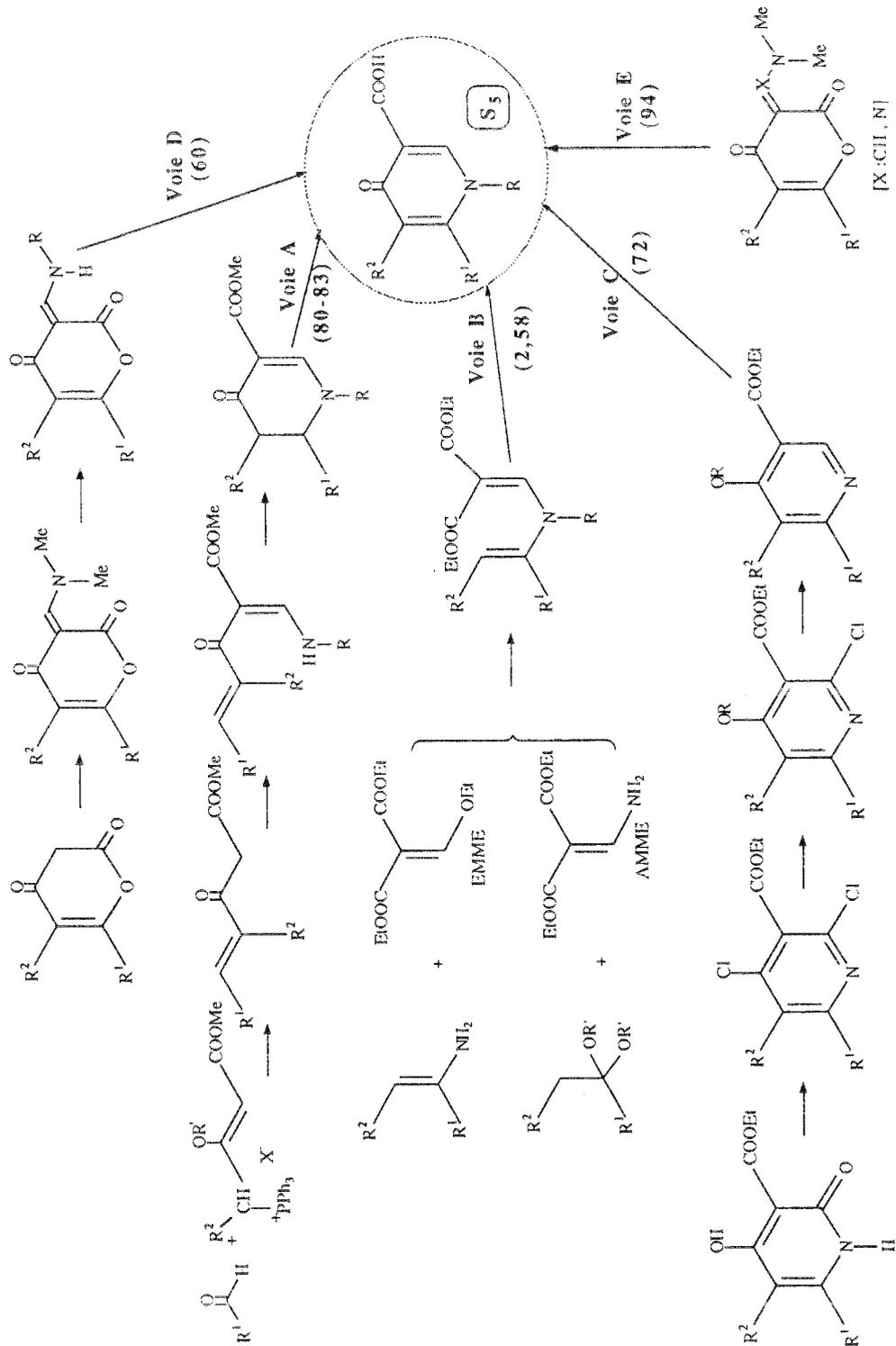


Schéma 20: Voies d'accès à la structure S5

2.5.2-Stratégie de synthèse

2.5.2.1-Principales voies d'accès à la structure S₅

Nous avons rassemblé dans le *schéma 20* quelques-unes des méthodes de synthèse du squelette 4-pyridone.

2.5.2.1.1-Voie A : Synthèse de Narita (80 - 83)

En 1983, Narita et coll. ont proposé une méthode de synthèse (*schéma 21*) en 10 étapes au départ de l'acétylacétate de méthyle **1**.

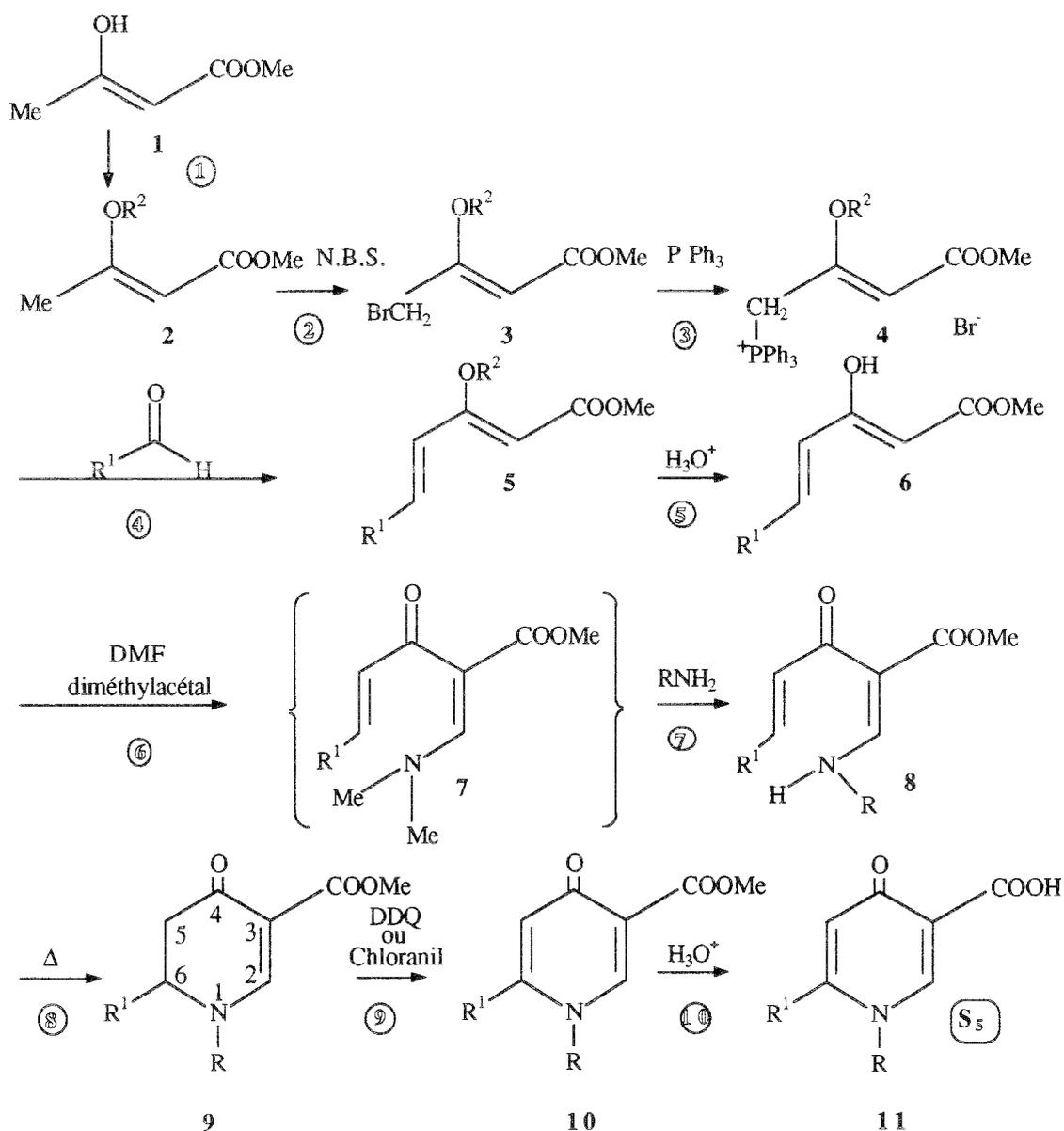


Schéma 21: Plan de synthèse du squelette S₅ selon Narita (80 - 83)

Le groupement méthyle en α de l'éther d'énol **2** est activé par bromation (étape **2**) et donne naissance à **3**. Ce dérivé bromométhylé, traité par la triphénylphosphine, conduit au sel de phosphonium **4** qui, condensé avec un aldéhyde selon une réaction de Wittig (étape **4**), suivie d'une déprotection (étape **5**), fournit le β -cétoester- γ -éthylénique **6**. Celui-ci, traité par le DMF diméthylacétal, fournit intermédiairement l'énamine **7**; son dérivé N-substitué **8**, par la thermocyclisation à 140°C dans le DMF (étape **8**) donne naissance au tétrahydro-4-oxonicotinate de méthyle **9** (purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice). Pour créer la double liaison entre C₅ et C₆ (étape **9**), Narita et coll. proposent, comme agent de déshydrogénation, la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone (DDQ) dans le benzène à 80°C ou la 2,3,4,5-tétrachloro-p-benzoquinone (Chloranil) dans le dioxane à 80°C. L'étape finale de cette synthèse consiste à hydrolyser l'ester **10** en acide correspondant **11**.

Cette voie de synthèse est intéressante pour obtenir toute une variété d'acides 4-pyridone-3-carboxyliques diversement substitués en position 6. Malheureusement, elle est particulièrement longue (10 étapes), ce qui explique les mauvais rendements (3% à 26%) qu'elle fournit.

2.5.2.12-Voie B: Synthèse de Agui (2) et de Kametani (58)

Ces deux auteurs ont proposé séparément, vers 1975, des méthodes voisines pour obtenir **4** (schéma 22). Ces plans de synthèse sont, en ce qui concerne les étapes **3** à **6**, à rapprocher du schéma de Gould et Jacob souvent mis à profit pour obtenir les quinolones.

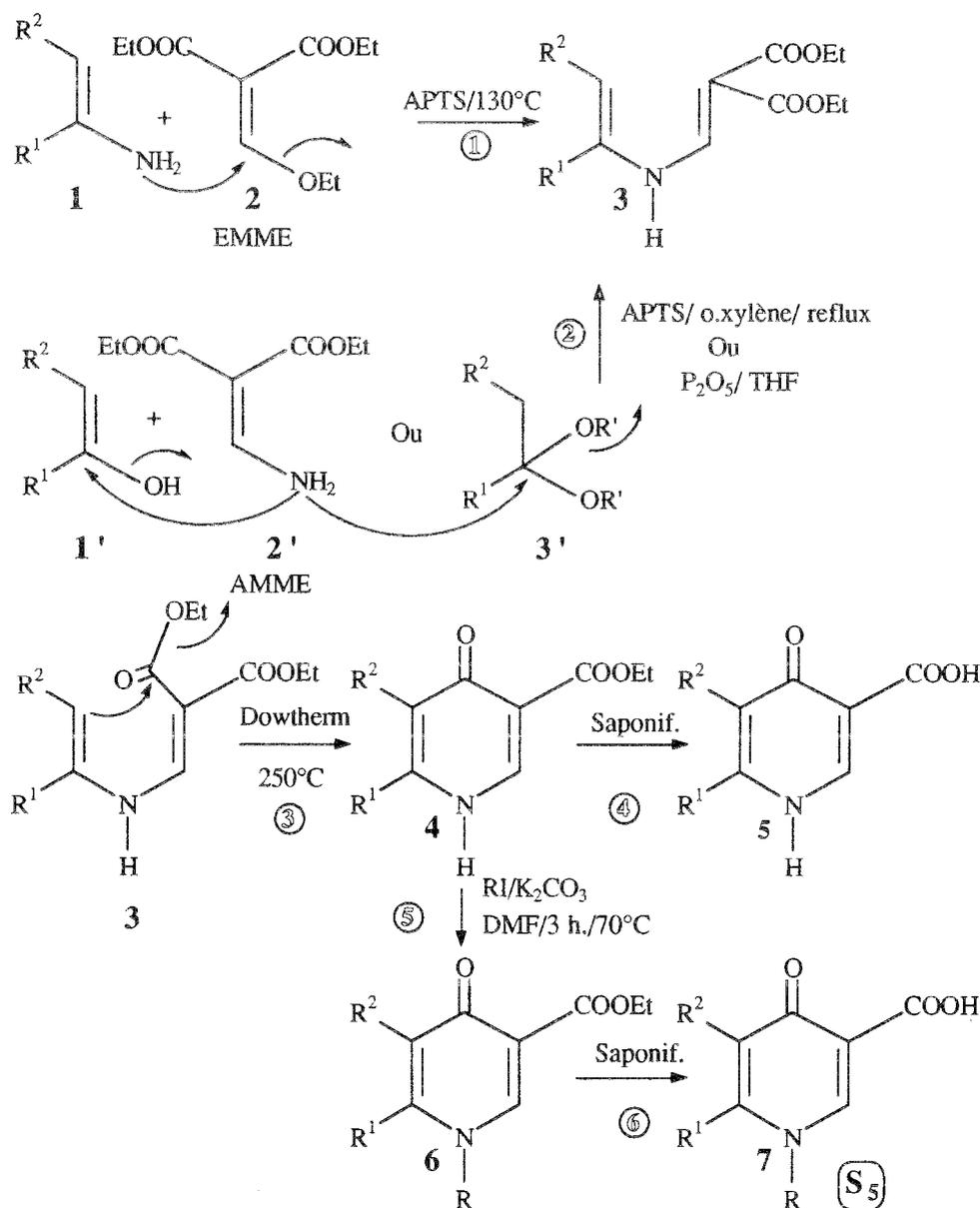


Schéma 22: Plan de synthèse du squelette **S5**. D'après Agui (2) et Kametani (58).

Les étapes 1 et 2 mettent en oeuvre, soit l'éthoxyméthylènemalonate d'éthyle **2** (EMME), soit l'analogue aminé ou aminométhylènemalonate d'éthyle **2'** (AMME) pour obtenir la divinylamine **3**. Celle-ci subit une thermocyclisation intramoléculaire (étape 3) en 1,4-dihydro-4-oxonicotinate d'éthyle **4**. La saponification de cet ester permet à Agui d'obtenir les acides ($R:H$) **5** correspondants [$R^1, R^2, (Rdt\%)$: Me, COMe, (84); Me, CO_2Et , (90); Me, SO_2Me , (86); Me, $\text{SO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-p.Me}$, (66); $-(\text{CH}_2)_3-$, (84)]. Kametani réalise la N-alcoylation (étape 5) de cet ester (iodure d'éthyle / carbonate de potassium, 3h. à 70°C , au sein du DMF) en **6** (R : Et) dont l'hydrolyse fournit **7**, c'est-à-dire **S5** [$R^1, R^2, (Rdt\%)$: Ph, Me, (81); Ph, Ph, (91); Me, Ph, (65)]. Les acides **5** et **7** sont tous solides ($F > 200^\circ\text{C}$) caractérisés par la présence d'un proton éthylénique apparaissant en RMN, sous forme d'un singulet, entre 8,77 et 9,47 ppm.

2.5.2.13-Voie C: Synthèse de Mittelbach (72)

Plus récemment, en 1988, Mittelbach a proposé une nouvelle synthèse de l'acide 6-méthyl-4(1H)-pyridone-3-carboxylique à partir du 2,4-dihydroxy-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle **1** (schéma 23).

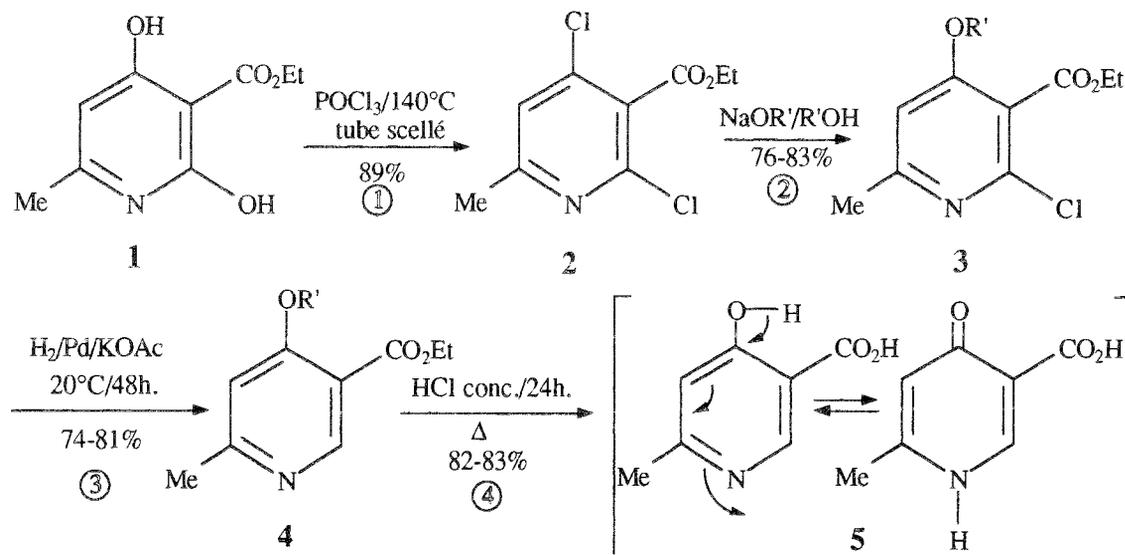


Schéma 23: Plan de synthèse du squelette S5 selon Mittelbach (72)

La matière première de cette synthèse (forme dicétonique de **1**) est obtenue par condensation du malonate d'éthyle avec le 3-aminobut-2-énoate d'éthyle. L'étape 1 consiste à traiter le diphenol **1** par un excès de chlorure de phosphoryle, à 140°C en tube scellé, pour obtenir le 2,4-dichloro-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle **2**, avec un rendement de 89%. La 4-hydroxylation du produit **2** est réalisée par le méthanolate(ou éthanolate) de sodium dans l'alcool correspondant afin de donner naissance au 4-alkoxy-2-chloro-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle **3**. La déchloration de **3**, par l'hydrogène en présence de palladium, permet d'obtenir l'ester **4** qui est ensuite hydrolysé en acide **5**. Le rendement global de cette synthèse en quatre étapes est d'environ 50%.

2.5.2.14-Voies D et E : Synthèse de Kilbourn (60) et Radl (94)

La voie de synthèse proposée par Kilbourn et Seidel (60) en 1972 (schéma 24), apparaît plus attractive que les précédentes car plus rapide et partant de 4-hydroxy-2-pyrones substitués commerciaux (dont la forme cétonique **1** est figurée ci-après).

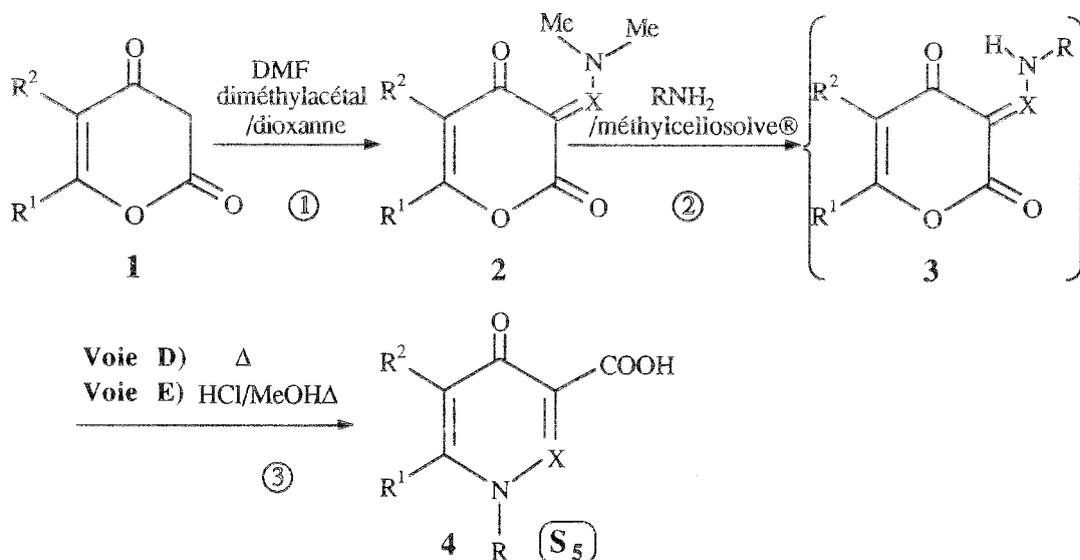


Schéma 24: Plan de synthèse du squelette S₅ selon Kilbourn et Seidel (60)

La première étape de la **voie D** consiste à traiter le produit **1** ($R^1=Me$, $R^2=H$ ou $R^1=R^2=-(CH_2)_n-$) par la 1,1-diméthoxytriméthylamine (DMF diméthylacétal) au sein du dioxanne. La 3-diméthylaminovinyl-2-pyrone **2** obtenue est alors traitée par une amine primaire en suspension dans le méthylcellosolve® (2-méthoxyéthanol), afin de donner naissance au dérivé N-substitué **3** qui n'est pas isolé. En effet, par chauffage du mélange réactionnel durant 3 h., il subit (étape 3) un réarrangement moléculaire en acide dihydropyrid-4-one-3-carboxylique **4**. Le *tableau XXIV* précise la structure des composés **4a-d** obtenus par ces auteurs, ainsi que les rendements de l'étape 3.

Tableau XXIV: Dérivés S₅ (X : CH) obtenus par Kilbourn et Seidel (60)

N°	R	R ¹	R ²	F°C	Rdt%
4a	H	Me	H	267-268	49
4b	Me	Me	H	231-232	75
4c	n.Bu	Me	H	138-139	44
4d	Me	—(CH ₂) _n —		281-283	60

En 1988, Radl et coll.(94) ont montré que l'on pouvait obtenir les dérivés N-arylé (**voie E**) en isolant les intermédiaires **3** correspondants dont la transposition moléculaire (étape 3) est réalisée en milieu acide (10% d'acide chlorhydrique au sein

du méthanol). Les structures **4** obtenues par ces auteurs, ainsi que les rendements de la dernière étape, dont l'augmentation sensible en partie liée au caractère électron-attracteur des substituants (F, Cl,...) du noyau benzénique, sont précisées ci-contre :

X: CH; R¹: Me; R²: H; R: H, Ph, 4-Me Ph, 2-MeO Ph, 3,4-Cl₂ Ph

X: N; R¹: Me; R²: H; R: H, 4-F Ph, 4-Me Ph, 2-MeO Ph, 3,4-Cl₂ Ph

Bien d'autres méthodes peuvent être imaginées, comme par exemple :

♦ l'introduction directe d'un groupement nitrile (et hydrolyse subséquente en acide) sur une 4-pyridone non substituée en position 3, comme l'a réalisée Hamana (**46**) sur une quinolone bicyclique, à l'aide du cyanure de potassium.

♦ la transposition d'une γ -pyrone en 4-pyridone, mais, à notre connaissance, aucune transformation de ce type n'a été réalisée pour conduire aux dérivés **S5**.

2.5.2.2-Choix des méthodes retenues

Compte-tenu de la simplicité (3 étapes), du caractère général (R quelconque) et du bon rendement qu'offrent les méthodes de Kilbourn (**60**) (Voie D), et de Radl (**94**) (Voie E), nous les avons modifiées et adaptées à l'obtention des acides 1-alcyl (cycloalcoyl,aryl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VIa-s**.

2.5.3-Plan de synthèse

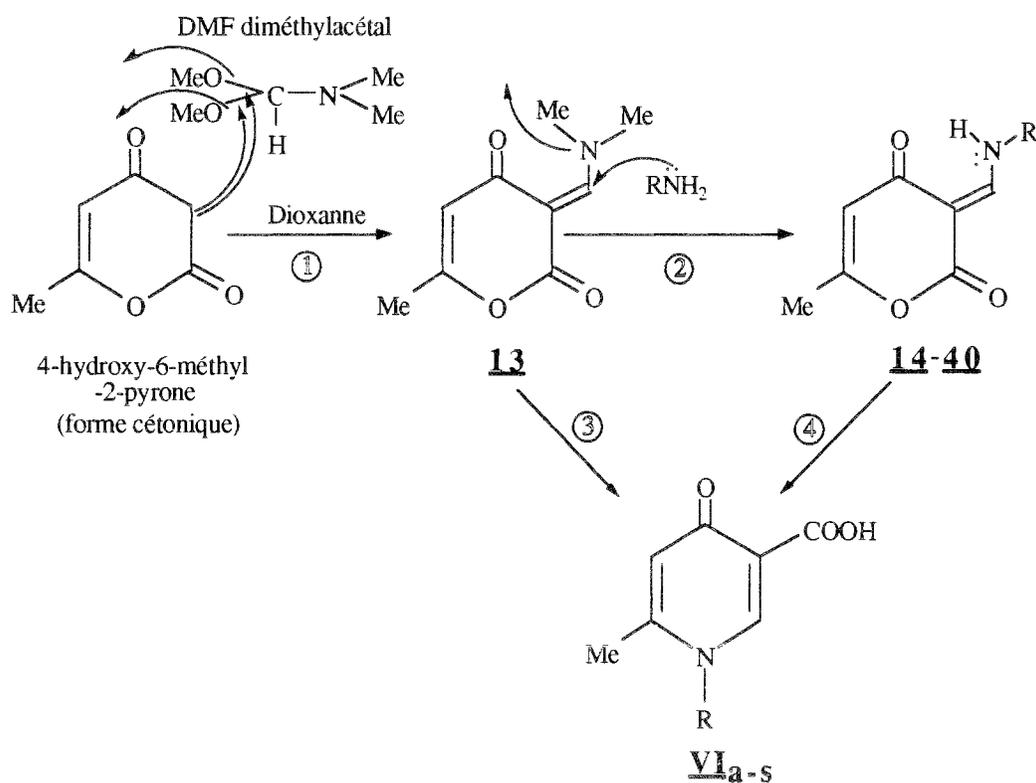


Schéma 25 : Plan de synthèse des produits **VIa-s**

La première étape de ce plan de synthèse (*schéma 25*) consiste à agiter, à température ambiante, durant 0,25 min. une suspension, dans le dioxane, de 1 équivalent de 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone et d'un large excès (1,8 éq.) de 1,1-diméthoxytriméthylamine (DMF diméthylacétal). La 3-diméthylaminovinylpyrone **13**, obtenue avec un rendement de 73%, est alors additionnée de 1,5 éq. de l'amine en solution aqueuse (étape 3) avant d'être maintenue à 80°C durant 3h. Par acidification, nous avons obtenu les acides **VIa-d**, caractérisés par des substituants R à réactivité aliphatique (Me, c.Pr, c.Hex et CH₂Ph).

Par contre, lorsque le substituant R est aromatique (2 et/ou 4-X Ph, avec X: F, Cl, Me, MeO, HO, t.Bu,...) comme dans les dérivés **VIe-s**, nous avons dû nous résoudre à passer (étape 2) par les intermédiaires N-subst.aminovinyls **14** à **40**, formés à froid au départ de **13** et de l'amine choisie au sein du méthylcellosolve®. Ces intermédiaires réactionnels, en solution éthanolique de l'amine correspondante (12 éq.), sont soumis à un réarrangement thermique (étape 4) acido-catalysé (10% HCl conc.) .

Nous proposons dans le *schéma 26* le mécanisme du réarrangement des 3-aminovinyl-4-oxo-2-pyrones **14** à **40**, en 1,4-dihydro-4-oxopyridine **VIa-s**.

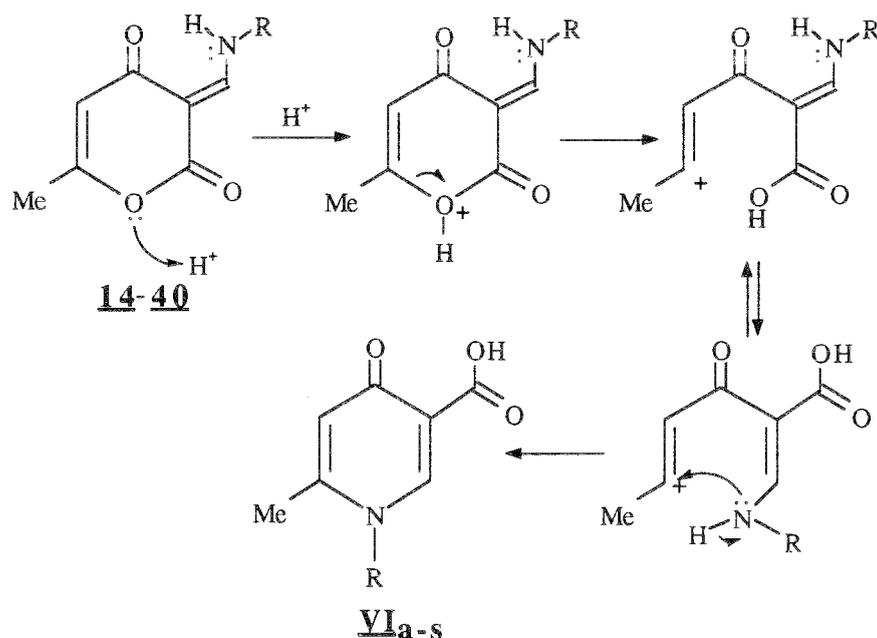


Schéma 26: Mécanisme de réarrangement d'une 4-oxo-2-pyrone en acide 4-pyridone-3-carboxylique

2.5.4-Composés obtenus

Nous avons obtenu les intermédiaires **13-40** et les produits finaux **VIa-s** décrits ci-après: (Tableaux XXV-XXVII)

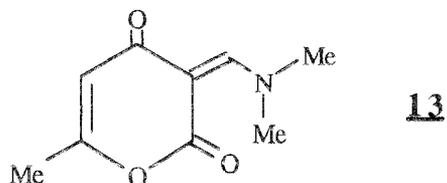


Tableau XXV

N°	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
13	73	cf.p.157	cf.p.157

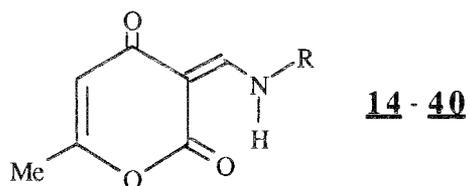


Tableau XXVI

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
14	Et	29	cf.p.158	cf.p.158
15	t.Bu	74	"	cf.p.159
16	c.Pr	35	"	"
17	c.Hex	27	"	cf.p.160
18	HO	81	"	cf.p.161
19	4-F Ph	89	"	"
20	4-MeO Ph	99,6	"	cf.p.162
21	2-Me 4-HO Ph	99,5	"	cf.p.163
22	2-HO 4-Me Ph	80	"	"
23	t.Bu Ph	83	"	cf.p.164
24	4-HO Ph	96	"	cf.p.165
25	4-Me ₂ N Ph	97	"	cf.p.166
26	4-H ₂ N Ph	89	"	"
27	4-O ₂ N Ph	40	"	cf.p.167
28	4-Cl Ph	93	"	cf.p.168
29	2,4-F ₂ Ph	75	"	"
30	3-HO Ph	52	"	cf.p.169
31	2-F Ph	75	"	cf.p.170
32	3-MeO Ph	87	"	"
33	3-Me Ph	33	"	cf.p.171
34	3-O ₂ N 4-Cl Ph	15	"	cf.p.172
35	2-Me 5-O ₂ N Ph	41	"	"
36	2-HO 5-Cl Ph	49	"	cf.p.173
37	2-OMe 4-O ₂ N Ph	87	"	cf.p.174
38	4-HOOC Ph	99	"	"
39	2,4-Cl ₂ Ph	82	"	cf.p.175
40	1-Napht.	67	"	cf.p.176

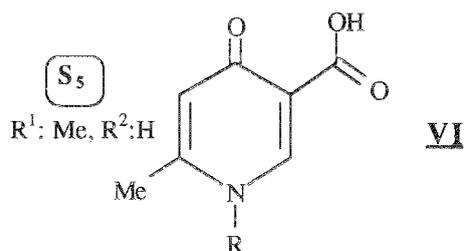


Tableau XXVII

N°	R	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
<u>VIa</u>	Me	66	cf.p.176	cf.p.177
<u>VIb</u>	c.Pr	27	"	cf.p.178
<u>VIc</u>	c.Hex	28	"	"
<u>VI d</u>	Bz	39	"	cf.p.179
<u>VIe</u>	4-F Ph	60	cf.p.180	cf.p.180
<u>VI f</u>	4-MeO Ph	54	"	cf.p.181
<u>VI g</u>	2-Me 4-HO Ph	63	"	cf.p.182
<u>VI h</u>	2-HO 4-Me Ph	53	"	cf.p.183
<u>VI i</u>	t.Bu Ph	57	"	cf.p.184
<u>VI j</u>	4-HO Ph	38	"	cf.p.185
<u>VI k</u>	4-Me ₂ N Ph	48	"	cf.p.186
<u>VI l</u>	2,4-Cl ₂ Ph	23	"	cf.p.187
<u>VI m</u>	4-O ₂ N Ph	20	"	"
<u>VI n</u>	4-Cl Ph	49	"	cf.p.188
<u>VI o</u>	2,4-F ₂ Ph	50	"	cf.p.189
<u>VI p</u>	3-HO Ph	49	"	cf.p.190
<u>VI q</u>	3-MeO Ph	57	"	cf.p.191
<u>VI r</u>	2-F Ph	53	"	"
<u>VI s</u>	1-Napht.	29	"	cf.p.192

2.5.5-Fragmentométrie de masse des squelettes 14/40 et VI (S₅)

Compte-tenu du rôle de précurseur que joue la structure 2-pyrone (14/40) pour le squelette S₅ (dérivés VI), il nous est apparu intéressant de définir, pour ces 2 séries, la filiation de fragmentation sous impact électronique de 70 eV. Les schémas 27 et 28 présentent nos propositions, que confirment les *tableaux XXVIII* et *XXIX* des ions caractéristiques obtenus.

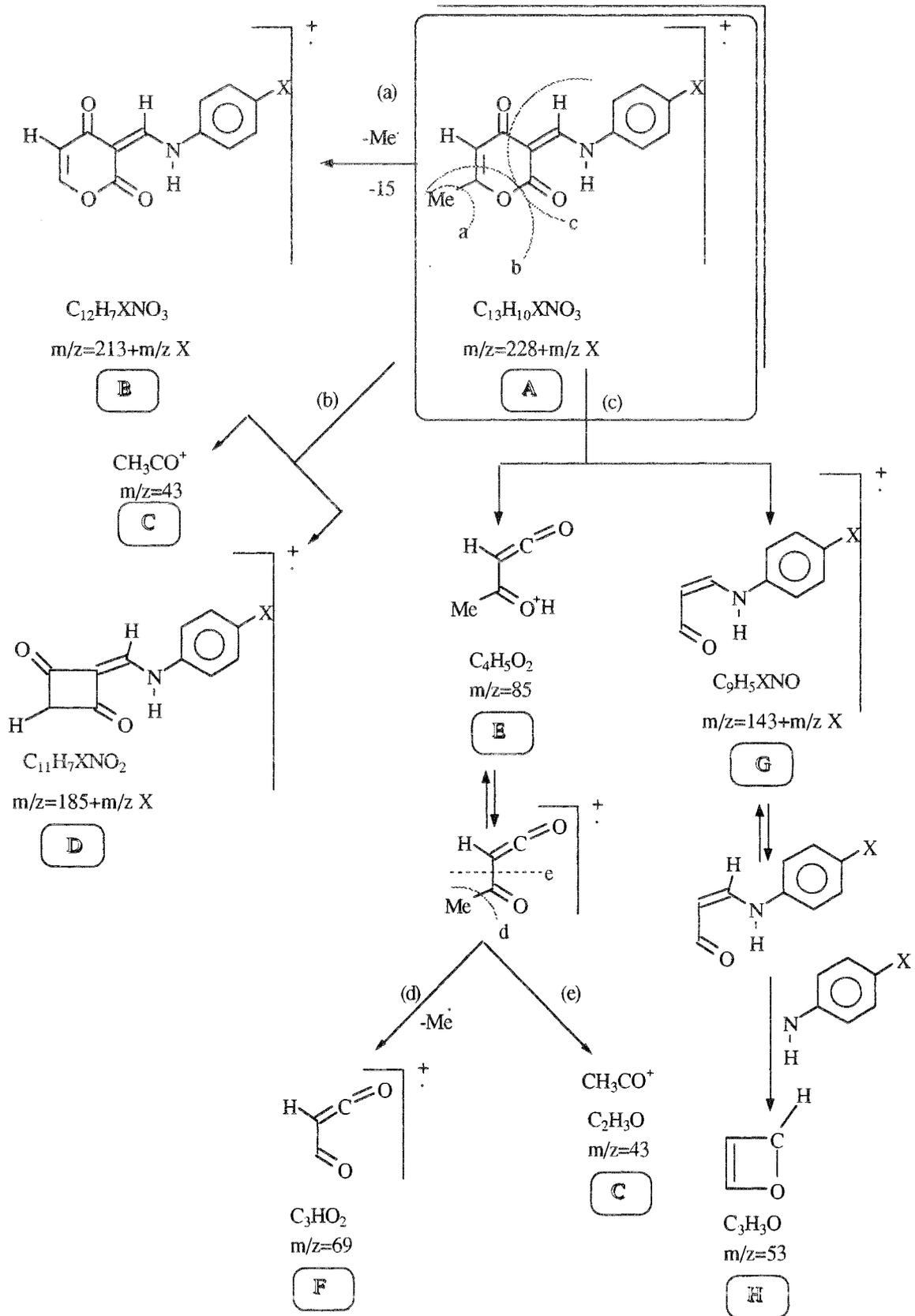
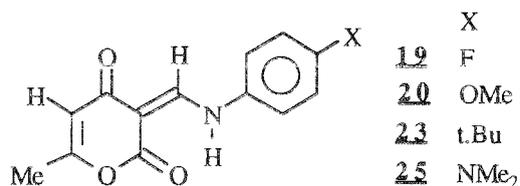


Schéma 27: Proposition d'un schéma général de fragmentation de masse des N-subst.aminométhylène-6-méthyl-4-oxo-3,4-dihydro-2-pyrones **A**.



Fragment	N°	m/z	Abondance relative%	Formule brute
A	19	247	100,0	C ₁₃ H ₁₀ FNO ₃
	20	259	100,0	C ₁₄ H ₁₃ NO ₄
	23	285	36,5	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃
	25	272	100,0	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₃
B	19	232	3,0	C ₁₂ H ₇ FNO ₃
	20	244	7,7	C ₁₃ H ₁₀ NO ₄
	23	270	100,0	C ₁₆ H ₁₆ NO ₃
	25	257	1,0	C ₁₄ H ₁₃ N ₂ O ₃
C	19	43	20,0	C ₂ H ₃ O
	20	43	12,3	C ₂ H ₃ O
	23	43	9,2	C ₂ H ₃ O
	25	43	14,6	C ₂ H ₃ O
D	19	204	8,5	C ₁₁ H ₇ FNO ₂
	20	216	16,9	C ₁₂ H ₁₀ NO ₃
	23	242	3,8	C ₁₅ H ₁₆ NO ₂
	25	229	4,6	C ₁₃ H ₁₃ N ₂ O ₂
E	19	85	17,7	C ₄ H ₅ O ₂
	20	85	10,7	C ₄ H ₅ O ₂
	23	85	7,7	C ₄ H ₅ O ₂
	25	85	14,6	C ₄ H ₅ O ₂
F	19	69	17,7	C ₃ HO ₂
	20	69	6,9	C ₃ HO ₂
	23	69	4,6	C ₃ HO ₂
	25	69	8,4	C ₃ HO ₂
G	19	162	25,3	C ₉ H ₅ FNO
	20	174	7,7	C ₁₀ H ₈ NO ₂
	23	200	0,0	C ₁₃ H ₁₄ NO
	25	187	21,5	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O
H	19	53	13,8	C ₃ H ₃ O
	20	53	9,2	C ₃ H ₃ O
	23	53	3,0	C ₃ H ₃ O
	25	53	4,5	C ₃ H ₃ O

Tableau XXVIII: Ions caractéristiques de la fragmentation de masse (70 eV) des 3-N-subst.aminométhylène-6-méthyl-4-oxo-3,4-dihydro-2-pyrones **19,20,23** et **25**.

(on notera la fragmentation particulière de **23**)

(* les fragments affectés de ce signe sont protonés)

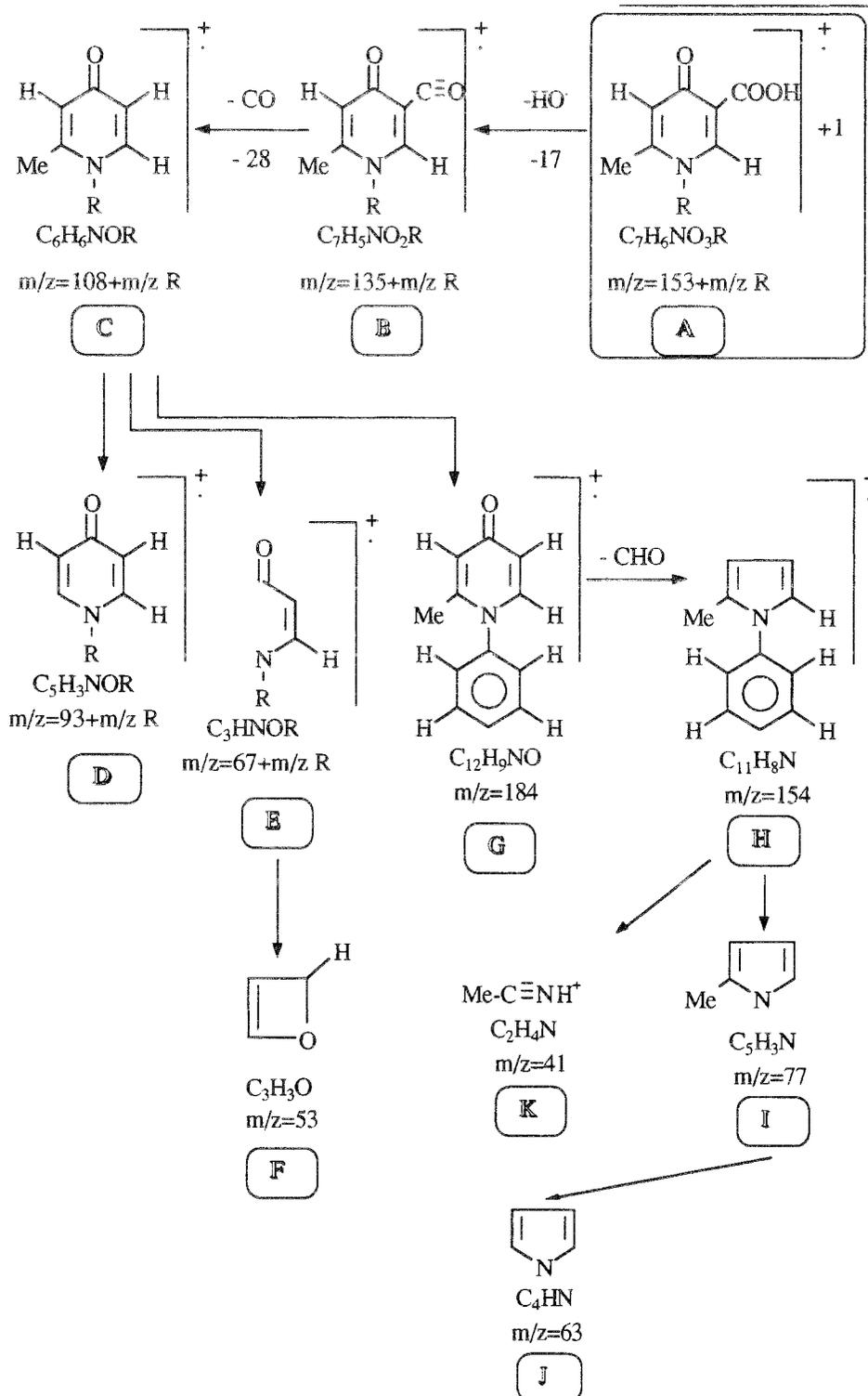
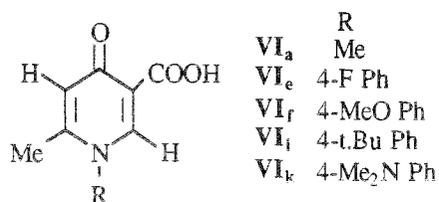


Schéma 28: Proposition d'un schéma général de fragmentation de masse des acides 1-subst.-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VI (structure S₅, R¹: Me, R²: H).



Fragment	N°	m/z	Abondance relative%	Formule brute
A	<u>VIa</u>	168	1,2	C ₈ H ₁₀ NO ₃
	<u>VIe</u>	248	2,0	C ₁₃ H ₁₁ FNO ₃
	<u>VI f</u>	260	13,7	C ₁₄ H ₁₂ NO ₄
	<u>VIi</u>	286	13,8	C ₁₇ H ₂₀ NO ₃
	<u>VIk</u>	272*	38,9	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₃
B	<u>VIa</u>	150	2,6	C ₈ H ₈ NO ₃
	<u>VIe</u>	230	3,0	C ₁₃ H ₉ FNO ₃
	<u>VI f</u>	242	3,8	C ₁₄ H ₁₂ NO ₄
	<u>VIi</u>	268	2,3	C ₁₇ H ₁₈ NO ₃
	<u>VIk</u>	255	1,0	C ₁₅ H ₁₅ N ₂ O ₃
C	<u>VIa</u>	123	100,0	C ₇ H ₉ NO
	<u>VIe</u>	203	100,0	C ₁₂ H ₁₀ FNO
	<u>VI f</u>	215	100,0	C ₁₃ H ₁₃ NO ₂
	<u>VIi</u>	241	100,0	C ₁₆ H ₁₉ NO
	<u>VIk</u>	228	100,0	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O
D	<u>VIa</u>	108	10,7	C ₆ H ₆ NO
	<u>VIe</u>	188	51,0	C ₁₁ H ₇ FNO
	<u>VI f</u>	200	44,3	C ₁₂ H ₁₀ NO ₂
	<u>VIi</u>	226	35,1	C ₁₅ H ₁₆ NO
	<u>VIk</u>	213	34,3	C ₁₃ H ₁₃ N ₂ O
E	<u>VIa</u>	82	12,3	C ₄ H ₄ NO
	<u>VIe</u>	162	6,0	C ₉ H ₅ FNO
F	<u>VIa</u>	53	45,3	C ₃ H ₃ O
	<u>VIe</u>	53	31,0	C ₃ H ₃ O
	<u>VI f</u>	53	37,0	C ₃ H ₃ O
	<u>VIi</u>	53	17,7	C ₃ H ₃ O
	<u>VIk</u>	53	13,7	C ₃ H ₃ O
G	<u>VI f</u>	184	32,8	C ₁₂ H ₉ NO
	<u>VIi</u>	184	49,2	C ₁₂ H ₉ NO
	<u>VIk</u>	184	69,4	C ₁₂ H ₉ NO
H	<u>VI f</u>	154	5,3	C ₁₁ H ₈ N
	<u>VIi</u>	154	3,0	C ₁₁ H ₈ N
	<u>VIk</u>	154	8,4	C ₁₁ H ₈ N
I	<u>VI f</u>	77	30,5	C ₅ H ₃ N
	<u>VIi</u>	77	9,9	C ₅ H ₃ N
	<u>VIk</u>	77	14,5	C ₅ H ₃ N
J	<u>VI f</u>	63	19,0	C ₄ HN
	<u>VIi</u>	63	0,0	C ₄ HN
	<u>VIk</u>	63	6,1	C ₄ HN
K	<u>VI f</u>	42*	7,6	C ₂ H ₅ N
	<u>VIi</u>	41	25,3	C ₂ H ₄ N
	<u>VIk</u>	42*	9,9	C ₂ H ₅ N

Tableau XXIX: Ions caractéristiques de la fragmentation de masse (70 eV) des acides 1-subst.-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIa,e,h,f,i,k
 (* les fragments affectés de ce signe sont protonés)

2.6-SYNTHESE DES 1-ALCOYL(ARYL)-4-OXO-6-METHYL-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLATES D'ETHYLE VIIa-d. ET D'ETHOXYCARBONYLMETHYLE VIIe

2.6.1-Objectifs pharmacochimiques

La préparation de ces esters avait pour unique but d'améliorer le rendement de la synthèse des acides **VIII** (cf.2.7) qui est particulièrement faibles. Nous avons pensé qu'en partant d'un ester au lieu d'un acide, l'obtention des acides 1-subst.-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VIII** serait plus aisée.

2.6.2-Stratégie de synthèse

2.6.2.1-Principales voies d'accès à la structure **Sg**

Les voies d'obtention de ces esters ne procèdent pas des méthodes d'esterification habituelles néanmoins, il est possible d'obtenir au départ des acides carboxyliques **VI**, les esters :

- méthyliques: avec le méthanol en présence de SOCl_2 (**80**).
- éthyliques, par action d'éthanol, en présence de quantités catalytiques d'acide sulfurique concentré (**32**).
- diméthylèneoxocarbonyl *tert*.butyliques, par action de $\text{I-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCOC-(CH}_3)_3$ dans la triéthylamine (**80**).
- méthoxyméthyliques, par action de ClCH_2OMe (**80**).
- éthoxycarbonylméthyliques, par action de $\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ et du carbonate de potassium dans le DMF (**57**).
- tert*.butyliques, par action du *tert*.butylate de potassium, en présence de 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI), au sein du THF. Il se forme intermédiairement un imidazolide qui est déprotégé par la base.(**28**).

Toutes ces méthodologies, mettant en oeuvre des réactifs puissants, démontrent la difficulté d'obtenir des esters des acides 1,4-dihydro-4-oxonicotinique.

2.6.2.2-Choix des méthodes retenues

Compte-tenu de la faible réactivité des acides dihydropyridoniques, nous avons adapté la méthode de Domagala (**32**) (alcool en milieu sulfurique), notamment par l'emploi d'un Dean et Stark pour obtenir les esters VIIa, VIIb, et VIIc. La méthode de Kadoya et coll.(**57**) (action des halogénures d'alcoyle dans le DMF en présence de carbonate de potassium) a été préférée pour préparer les esters VII d et VIIe en utilisant respectivement l'iodure d'éthyle et le chloroacétate d'éthyle.

2.6.3-Plan de synthèse et composés obtenus

L'esterification des acides carboxyliques **VI**, par un alcool, selon Domagala ou un halogénure d'alcoyle selon Kadoya, permet d'obtenir les composés **VIIa-e** rassemblés dans le *tableau XXX*.

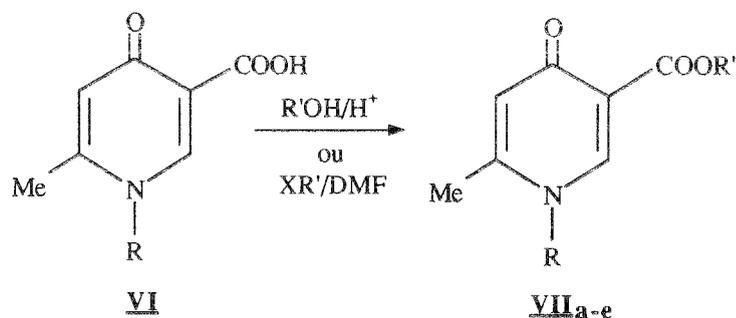


Tableau XXX

N°	R	R'	Rdt%	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
VIIa	Me	Et	23	cf.p.193	cf.p.194
VIIb	4-F Ph	Et	27	"	"
VIIc	4-MeO Ph	Et	50	"	cf.p.195
VII d	3-MeO Ph	Et	41	cf.p.196	cf.p.197
VIIe	4-F Ph	CH ₂ CO ₂ Et	37	cf.p.197	cf.p.198

2.6.4-Fragmentométrie de masse des esters VII

La difficulté extrême d'obtention des esters **VII** et les rendements médiocres observés ($\text{Rdt} \leq 50\%$, ce qui est très faible pour des esters d'alcanols primaires) nous ont incité à nous assurer de la structure des composés synthétisés. Disposant des données de fragmentométrie de masse des acides générateurs **VI** (cf. p. 96), il nous était aisé de vérifier si l'esterification souhaitée n'avait pas engendré de produits secondaires. Le *schéma 29* présente notre proposition de fragmentation des esters **VII** sous impact électronique de 70 eV. alors que le *tableau XXXI* précise les caractéristiques des ions formés. Ces résultats confirment sans ambiguïté les structures **VIIa,b,c,e** proposées.

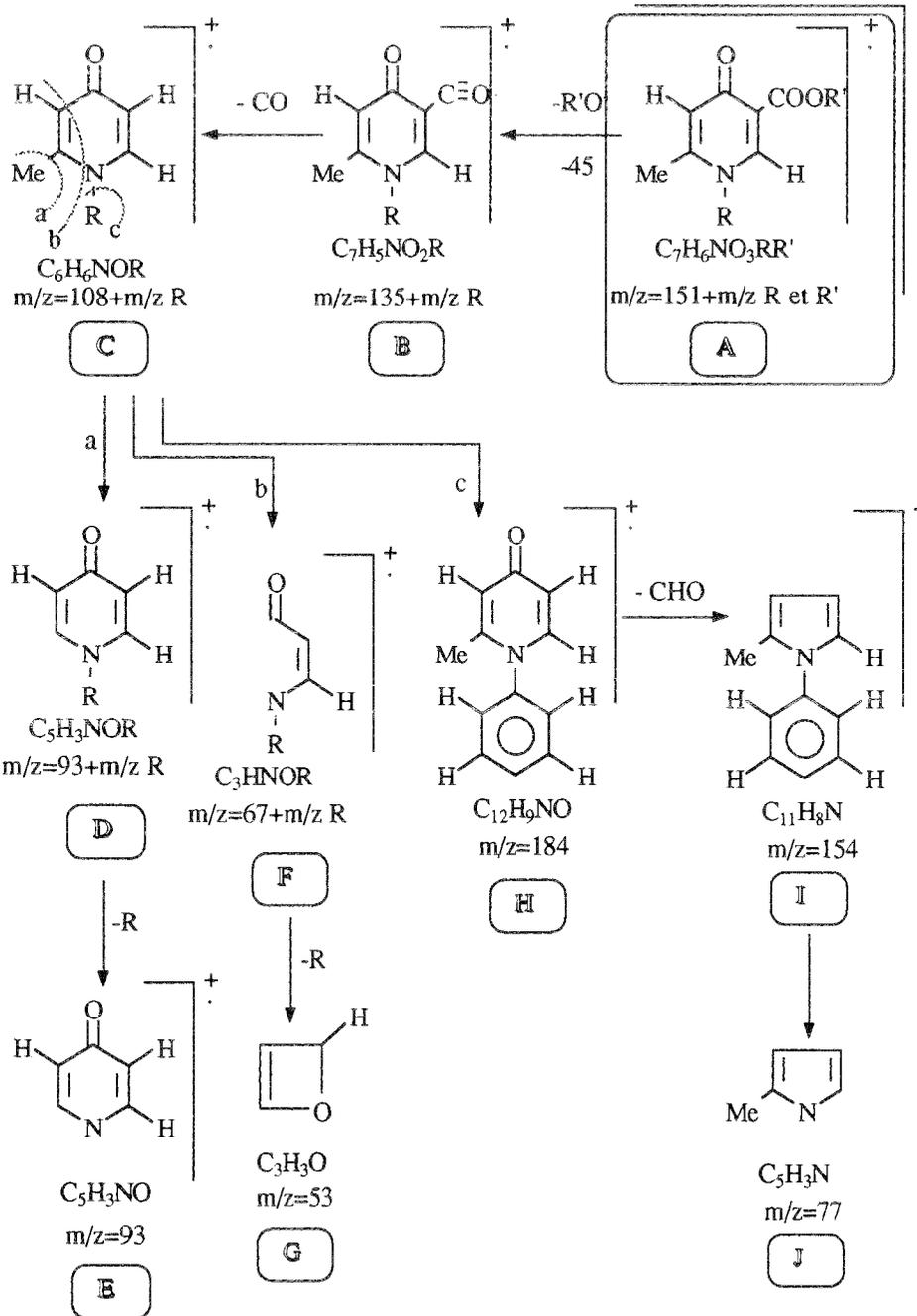
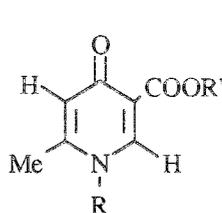


Schéma 29 : Proposition d'un schéma général de fragmentation de masse des esters VII des acides 1-subst.-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VI



	R	R'
VII _a	Me	Et
VII _b	4-F Ph	Et
VII _c	4-MeO Ph	Et
VII _e	4-F Ph	CH ₂ COOEt

Fragment	N°	m/z	Abondance relative%	Formule brute
A	VII _a	195	4.0	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃
	VII _b	276*	10.0	C ₁₅ H ₁₅ FNO ₃
	VII _c	278	3.0	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄
	VII _e	333	11.5	C ₁₇ H ₁₆ FNO ₅
B	VII _a	150	15.5	C ₈ H ₈ NO ₂
	VII _b	230	22.3	C ₁₁ H ₉ FNO ₂
	VII _c	242	11.4	C ₁₂ H ₁₂ NO ₃
	VII _e	230	100.0	C ₁₁ H ₉ FNO ₂
C	VII _a	123*	100.0	C ₇ H ₉ NO
	VII _b	203*	100.0	C ₁₂ H ₁₁ FNO
	VII _c	215*	42.7	C ₁₃ H ₁₄ NO ₂
	VII _e	203*	97.6	C ₁₂ H ₁₁ FNO
D	VII _a	108	1.5	C ₆ H ₆ NO
	VII _b	188	38.5	C ₁₁ H ₇ FNO
	VII _c	201*	100.0	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂
	VII _e	188	19.2	C ₁₁ H ₇ FNO
E	VII _a	94*	6.0	C ₅ H ₄ NO
	VII _b	95*	44.6	C ₅ H ₅ NO
	VII _c	93	11.5	C ₅ H ₃ NO
	VII _e	95*	34.6	C ₅ H ₅ NO
F	VII _a	82	1.1	C ₄ H ₄ NO
	VII _b	162	3.8	C ₉ H ₅ FNO
	VII _c	174	1.0	C ₁₀ H ₈ NO
	VII _e	162	3.2	C ₉ H ₅ FNO
G	VII _a	53	20.0	C ₃ H ₃ O
	VII _b	53	24.6	C ₃ H ₃ O
	VII _c	53	26.7	C ₃ H ₃ O
	VII _e	53	19.2	C ₃ H ₃ O
H	VII _b	184	1.0	C ₁₁ H ₇ NO
	VII _c	184	45.8	C ₁₁ H ₇ NO
	VII _e	184	3.5	C ₁₁ H ₇ NO
I	VII _b	156*	20.0	C ₁₁ H ₁₀ N
	VII _c	154*	3.0	C ₁₁ H ₈ N
J	VII _b	79*	20.0	C ₅ H ₅ N
	VII _c	79*	19.0	C ₅ H ₅ N
	VII _e	75*	10.7	C ₅ HN

Tableau XXXI: Ions caractéristiques de la fragmentation de masse (70 eV.) des esters VII_{a,b,c,e}. (* les fragments affectés de ce signe sont protonés)

2.7-SYNTHESE DES ACIDES 1-ALCOYL(ARYL)-4-OXO-6-[(2-N,N-DIMETHYLAMINO)VINYL]-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUES VIIIa-e

ET DE L'ACIDE 1-(4-METHOXYPHENYL)-4-OXO-6-[2-N-(2,4-DICHLOROPHENYLAMINO)VINYL]-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3-CARBOXYLIQUE VIII_f.

2.7.1-Objectifs pharmacochimiques

Compte-tenu que les "monoquinolones" VI, substituées en position-6 par un groupement méthyle ont peu ou pas d'activité antibactérienne (c.f. p.219), il nous est apparu intéressant de fonctionnaliser ce pôle carboné par l'introduction d'un groupement aminovinyle : [(R¹)(R²)N-CH=CH-]. Les acides VIII_{a-f} de structure générale S₆ qui en résultent, répondent à un triple objectif :

2.7.1.1-Analogie de géométrie moléculaire avec les quinolones de 2^{ème} génération

Les "nouvelles quinolones", dont nous avons présenté antérieurement (c.f. p. 19) l'intérêt pharmaco-clinique (spectre large, pharmacocinétique de même qualité quelle que soit la voie d'administration parentérale ou orale, remarquable distribution dans des organes parenchymes pulmonaires, os,.... où les autres antibiotiques ne diffusent pas, métabolisme par glucuronocouplage.....), se caractérisent chimiquement par la présence en position 7 d'un groupement amino inséré dans un hétérocycle. Les acides VIII présentent, avec ces antibiotiques, une analogie structurale qui apparaît dans la figure 36 ci-après :

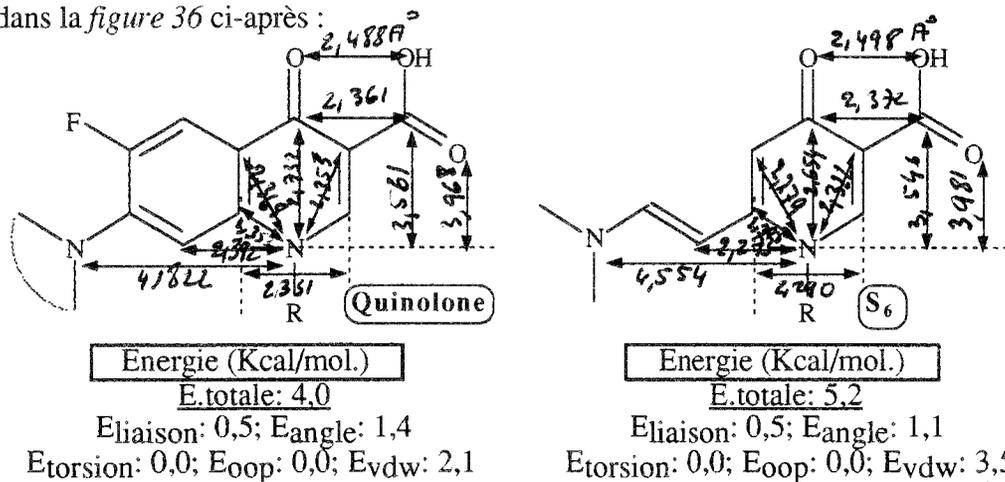


Figure 36: Analogie de géométrie moléculaire de S₆ avec les quinolones de 2^{ème} génération

2.7.1.2-Renforcement de l'effet chélatant du pôle carbonyle β-hydroxylé

Robaux (98) ayant montré la formation d'un complexe quaternaire quinolone-base-métal-tyrosine, il apparaissait intéressant de potentialiser l'effet complexant du pôle carbonyle β-hydroxyle de S₅ par la présence d'un groupement électron-donneur,

séparé du carbonyle par un système de double-liaisons conjuguées ou d'électron π / électrons libres de l'atome d'azote.

2.7.1.3-Augmentation de la lipophilie

On sait le rôle déterminant que joue le caractère lipophile dans la capacité des pharmacomolécules anti-infectieuses à traverser la paroi bactérienne et à exercer leur effet à ce niveau. Certes, les quinolones polycycliques ou monocycliques et leurs analogues ouverts sont potentiellement des inhibiteurs de l'ADN gyrase et, par suite, ne requièrent pas fondamentalement cette propriété. Nous ferons néanmoins observer que toutes les oxacines constituant l'arsenal thérapeutique actuel (fluoroquinolones) ou de demain (difluoroquinolones) se caractérisent par un log P, calculé selon Hansch-Leo, compris entre 0,80 et 2,55 conformément aux données du *tableau XXXII*.

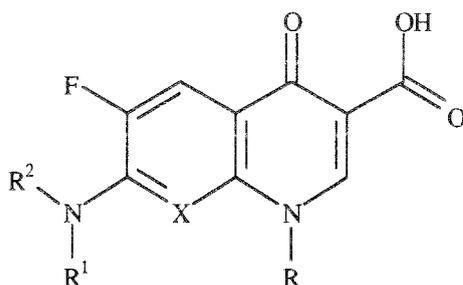


Tableau XXXII: log P (calculé selon Hansch-Leo) des fluoro- et difluoroquinolones

log P	D.C.I.	R	X	R ¹	R ²
0,80	Ciprofloxacin (Bayer)	c.Pr	CH	-(CH ₂) ₂ -NH-(CH ₂) ₂ -	
0,85	Tosufloxacin (Abbott)	2,4-F ₂ Ph	N	-(CH ₂) ₂ -CH(Me)-(CH ₂) ₂ -	
0,92	Ofloxacin (Diamant)	-CH(Me)CH ₂ -O-	C	-(CH ₂) ₂ -N(Me)-(CH ₂) ₂ -	
0,93	Rufloxacin (Mediolanum)	-CH ₂ -CH ₂ -S-	C	-(CH ₂) ₂ -N(Me)-(CH ₂) ₂ -	
1,11	Lomefloxacin (Hokurku Seiyaku)	Et	CF	-(CH ₂) ₂ -NH-CH(Me)-(CH ₂) ₂ -	
1,17	Fleroxacin (Hoffman-La Roch)	-CH ₂ -CH ₂ -F	CF	-(CH ₂) ₂ -N(Me)-(CH ₂) ₂ -	
1,27	Pefloxacin (Roger Bellon)	Et	CH	-(CH ₂) ₂ -N(Me)-(CH ₂) ₂ -	
1,41	Acide nalidixique	Archétype des quinolones de 1 ^{ère} génération			
2,55	Temafloxacin (Abbott)	2,4-F ₂ Ph	CF	-(CH ₂) ₂ -NH-CH(Me)-(CH ₂) ₂ -	

Les dérivés **VIIIa-f**, dans lesquels la présence d'une chaîne aminovinyle apporte une augmentation peu significative du log P de +0,45 par rapport aux analogues

méthylés VI, présentent des log P (Tableau XXXIII) s'intégrant dans la frange supérieure de l'intervalle de référence.

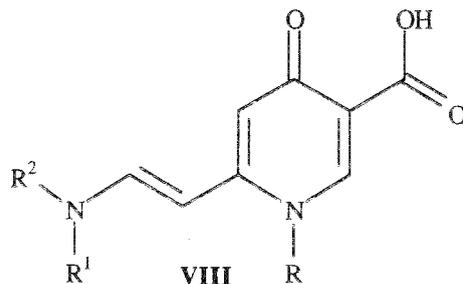


Tableau XXXIII: log P (calculé selon Hansch-Leo) des "monoquinolones" VIIIa-f

log P	R	R ¹	R ²	VIII
0,46	Me	Me	Me	a
1,42	4-Me ₂ N Ph	Me	Me	e
1,60	4-F Ph	Me	Me	b
2,04	4-MeO Ph	Me	Me	c
3,47	4-MeO Ph	H	2,4-F ₂ Ph	f
4,10	4-t.Bu Ph	Me	Me	d

VIIIe et l'Acide nalidixique ont la même lipophilie calculée

2.7.2-Stratégie de synthèse

2.7.2.1-Principales voies d'accès à la structure S₆

Déjohn et coll.(28) ont réalisé la transformation d'un méthyle en α de l'azote pyridinique en groupement vinylique (R'-CH=CH-, avec R' : Ph), selon le schéma 30 ci-après :

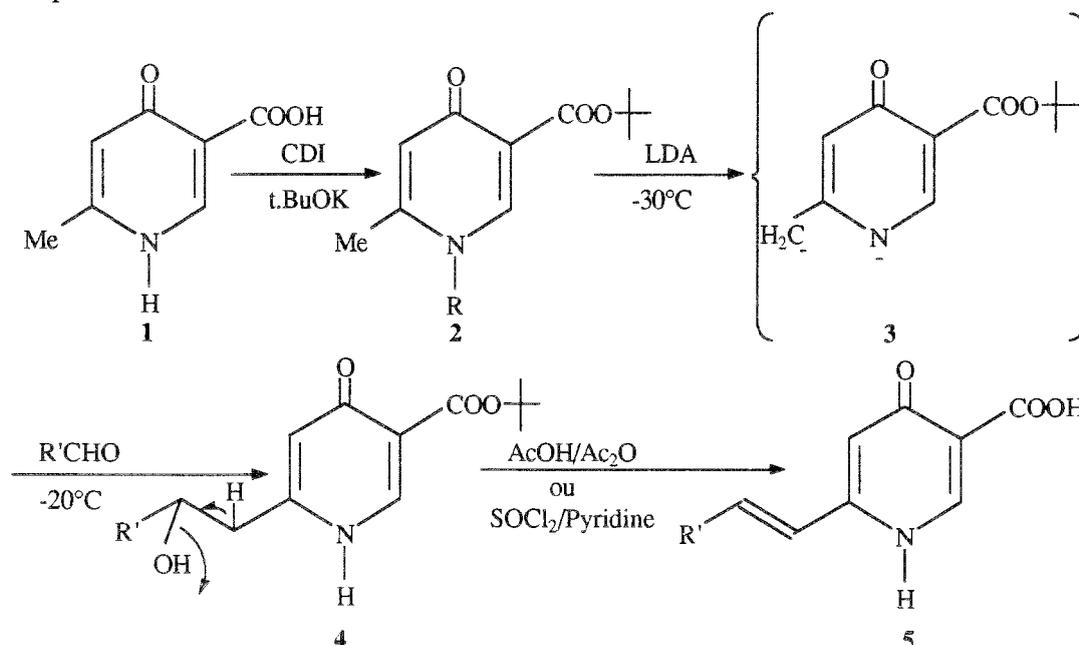


Schéma 30 : Synthèse d'analogues du squelette S₆ selon Déjohn et coll.(28)

Cette méthode (6 étapes) n'est pas de réalisation aisée en raison des conditions très sévères mises en oeuvre (basse température,....).

L'acide **1** est estérifié en présence de carbonyldiimidazole (CDI) (cf. P. 98) en ester *tert.*butylique **2** qui est transformé en dicarbanion **3**, sous l'action de *n.*butyllithium. La condensation de ce dernier, à -20°C avec un aldéhyde, fournit l'alcool secondaire **4** dont la déshydratation en milieu acide conduit à l'acide **5** attendu [R' : Me, 2-furyl, 2-pyridyl, 3-thiényl, 3,4,5-triméthoxyphényl].

D'autres méthodes de synthèse sont possibles, telles que :

-la méthode de Narita et coll.(**80** - **83**) qui consiste à condenser directement l'acide de structure **S5** avec un aldéhyde, au sein de l'anhydride acétique, et que nous avons essayé sans succès.

-la méthode de Baldwin (**5,6**) et de Balogh (**7**) qui utilise la 1,1-diméthoxytriméthylamine (DMF diméthylacétal) pour réaliser la transformation (Me \Rightarrow CH=CH-NMe₂) avec de bons rendements. Cet enchaînement énaminique peut être fonctionnalisé en -CH=CH-NHAr selon la très récente méthode (1991) de Vors (**120**), par action d'une arylamine primaire en milieu acétique.

Signalons enfin que nous avons expérimenté, sans succès, d'autres acétals comme le 1-piperidineacétaldéhydediéthylacétal, le phénylacétaldéhydediméthylacétal, le propionaldéhydediéthylacétal, le dichloroacétaldéhydediéthylacétal et le chloroacétaldéhydediméthylacétal. Dans tous les cas, nous avons observé une absence de réactivité du groupement méthyle en α de l'azote du noyau 1,4-dihydro- γ -pyridone.

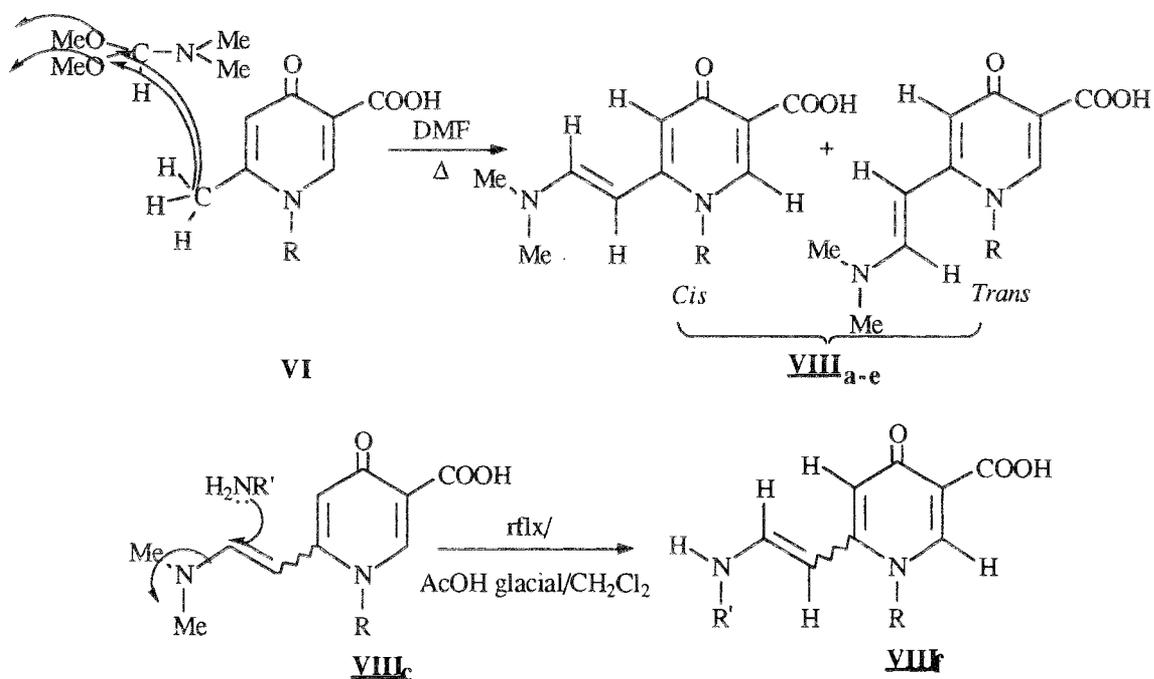
2.7.2.2-Choix des méthodes retenues

Nous avons effectué la synthèse des produits **VIII_{a-e}**, avec des rendements de l'ordre de 50 %, en adaptant la méthode de Baldwin (**5,6**) et Balogh (**7**).

Pour obtenir l'acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-[2-N-(2,4-dichlorophényl-amino)-vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VIII_f**, nous avons fait appel à la méthode de Vors (**120**) : celle-ci consiste à porter à reflux, durant 48 h., un mélange équimoléculaire d'acide **VIII_c** (substitué en 6 par un groupement N,N-diméthylaminovinyle) et de 2,4-dichloroaniline, au sein du dichlorométhane, en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique glacial. Dans ces conditions le groupement -NMe₂ apparaît être un bon groupement partant ce qui donne naissance à l'acide **VIII_f** avec un rendement de 29%.

Le spectre ¹H RMN (200 MHz) de tous les dérivés **VIII** montre la présence constante d'un signal Ha de type (dd) situé entre 6,4 et 7,25 ppm qui est en faveur d'un mélange de 2 stéréo-isomères *cis* et *trans* les plus thermodynamiquement stables (cf.schéma 31).

2.7.3-plan de synthèse et composés obtenus

Schéma 31: Plan de synthèse des produits **VIII_{a-f}**

Nous avons rassemblé, dans le *tableau XXXIV* ci-après, les acides **VIII** obtenus :

Tableau XXXIV

N°	R	R'	Rdt %	Méthode de synthèse	Caractéristiques physico-chimiques
VIII_a	Me	-	53	cf.p.199	cf.p.199
VIII_b	4-F Ph	-	49	"	cf.p.200
VIII_c	4-MeO Ph	-	33	"	cf.p.201
VIII_d	4-t.Bu Ph	-	58	"	cf.p.202
VIII_e	4-Me ₂ N Ph	-	50	"	cf.p.203
VIII_f	4-MeO Ph	2,4-Cl ₂ Ph	29	cf.p.204	cf.p.204

2.7.4-Fragmentométrie de masse du squelette S₆

Nous avons souhaité compléter nos données analytiques ¹H RMN, IR, caractérisant le squelette original S₆ par un schéma général de fragmentation (*schéma 32*) et des ions caractéristiques engendrés sous impact électronique de 70 eV. (*Tableau XXXV*).

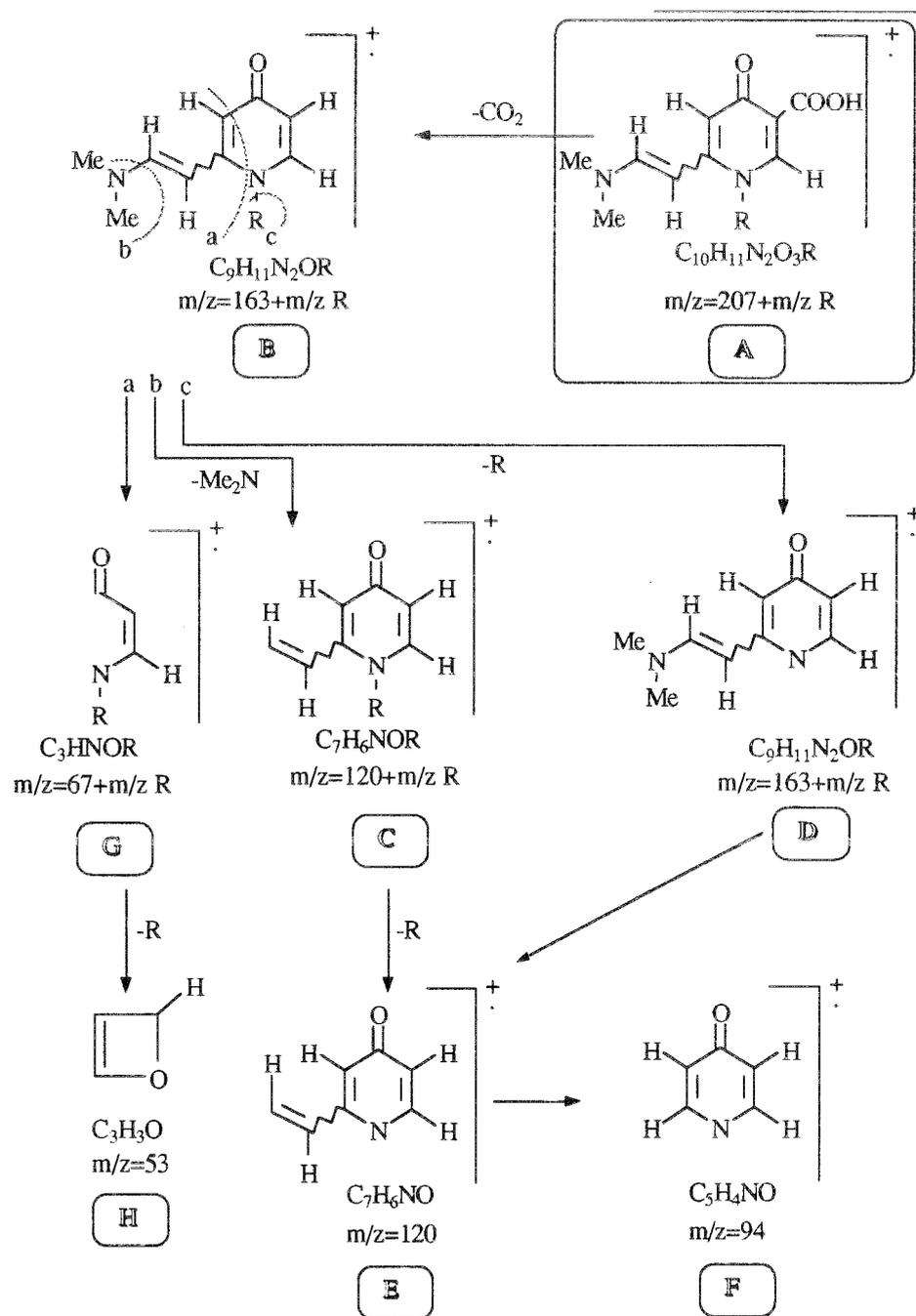
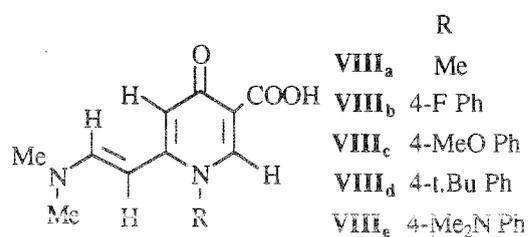


Schéma 32: Proposition d'un schéma général de fragmentation de masse du squelette **S₆** (R' : R'' : Me)



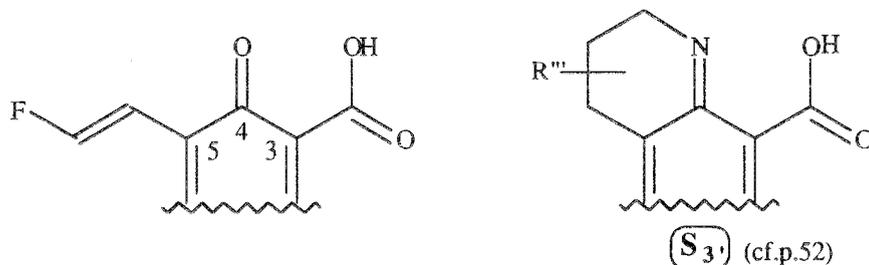
Fragment	N°	m/z	Abondance relative%	Formule brute
A	VIIIa	222	29,0	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O ₃
	VIIIb	302	15,9	C ₁₆ H ₁₅ FN ₂ O ₃
	VIIIc	314	15,3	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄
	VIII _d	341*	38,9	C ₂₀ H ₂₅ N ₂ O ₃
	VIII _e	327	1,0	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₃
B	VIIIa	178	100,0	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O
	VIIIb	258	100,0	C ₁₅ H ₁₅ FN ₂ O
	VIIIc	270	100,0	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₂
	VIII _d	296	100,0	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O
	VIII _e	286*	100,0	C ₁₇ H ₂₄ N ₃ O
C	VIIIa	134*	47,0	C ₈ H ₇ NO
	VIIIb	214*	12,1	C ₁₃ H ₈ FNO
	VIIIc	226*	8,4	C ₁₄ H ₁₁ NO ₂
	VIII _d	252*	6,1	C ₁₇ H ₁₇ NO
	VIII _e	239*	7,6	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O
D	VIIIa	163	10,0	C ₉ H ₁₀ N ₂ O
	VIIIb	162*	5,3	C ₉ H ₁₁ N ₂ O
	VIIIc	163	0,0	C ₉ H ₁₀ N ₂ O
	VIII _d	163	1,9	C ₉ H ₁₀ N ₂ O
	VIII _e	163	1,9	C ₉ H ₁₀ N ₂ O
E	VIIIa	120	3,5	C ₇ H ₆ NO
	VIIIb	122*	10,6	C ₇ H ₈ NO
	VIIIc	122*	3,7	C ₇ H ₈ NO
	VIII _d	122*	1,0	C ₇ H ₈ NO
	VIII _e	122*	5,4	C ₇ H ₈ NO
F	VIIIa	94	29,0	C ₅ H ₄ NO
	VIIIb	94	47,1	C ₅ H ₄ NO
	VIIIc	94	30,0	C ₅ H ₄ NO
	VIII _d	94	42,4	C ₅ H ₄ NO
	VIII _e	94	18,3	C ₅ H ₄ NO
G	VIIIa	82	2,9	C ₄ H ₅ NO
	VIIIb	162	5,3	C ₉ H ₆ FNO
	VIIIc	174	2,0	C ₁₀ H ₉ NO ₂
	VIII _d	22	0,0	C ₁₃ H ₁₅ NO
	VIII _e	184*	53,4	C ₁₁ H ₉ N ₂ O
H	VIIIa	52*	97,0	C ₃ H ₂ O
	VIIIb	53	12,1	C ₃ H ₃ O
	VIIIc	53	9,2	C ₃ H ₃ O
	VIII _d	53	3,2	C ₃ H ₃ O
	VIII _e	53	0,0	C ₃ H ₃ O

Tableau XXXV: Ions caractéristiques de la fragmentation de masse (70 eV.) des acides VIII_{a-e}. (* les fragments affectés de ce signe sont protonés)

2.8-SYNTHESE DE L'ACIDE 1-(4-METHOXYPHENYL)-4- OXO-5-BROMO-6-METHYL-1,4-DIHYDROPYRIDINE-3- CARBOXYLIQUE 41

2.8.1-Objectif pharmacochimique

Ce dérivé bromé en position 5 a été synthétisé, comme dérivé fonctionnalisé de la structure VI, en vu d'obtenir ultérieurement des analogues disubstitués du type :



2.8.2-Stratégie, plan de synthèse et composé obtenu

En absence de toute littérature sur ce sujet, nous avons réalisé la bromation de cette pyridone par le N-bromosuccinimide. Nous avons opéré en présence d'une quantité catalytique de peroxyde de benzoyle, au sein du chloroforme (dans CCl_4 , le produit de départ n'était pas soluble), en irradiant le mélange réactionnel par le rayonnement d'une ampoule électrique. Cette réaction est de type radicalaire, l'éclairage et la présence de peroxyde de benzoyle jouant le rôle d'initiateurs radicalaires. Le spectre de masse (cf.p. 206) montre que la fixation de brome a bien eu lieu en C-5 alors que le spectre de RMN ^1H prouve que le proton du C-5, qui était à 6,70 ppm, a disparu et que celui du C-2 s'est déplacé de 8,25 à 8,48 ppm. Le schéma 33 précise la filiation VI \Rightarrow 41.

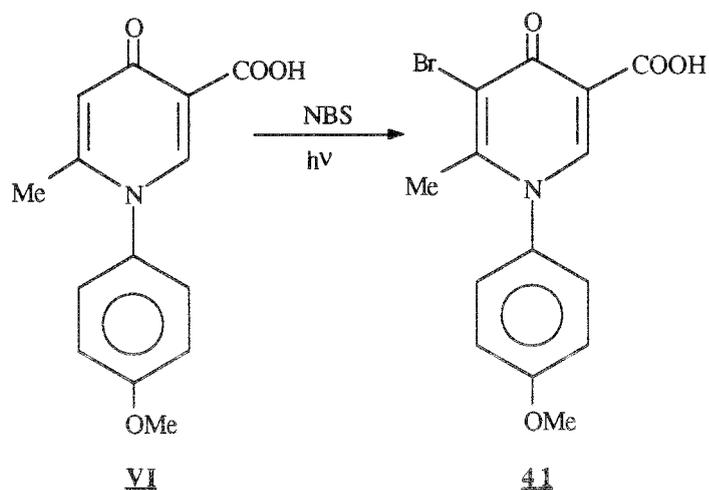


Schéma 33: Plan de synthèse de produit 41

III-PARTIE EXPERIMENTALE

1-CHIMIE

PRINCIPAUX APPAREILLAGES UTILISES POUR LA PURIFICATION, ET LA CARACTERISATION DES PRODUITS SYNTHETISES.

SUIVI DES REACTIONS

◆ Le cours des réactions chimiques est contrôlé par chromatographie sur couche mince (CCM) : Support: gel de silice Merk 60 F254 sur feuille plastique. Eluant: mélanges appropriés de solvants. Révélation en lumière ultra violet à 254 nm à l'aide d'un appareil Desaga Min UVIS.

◆ Les proportions de constituants d'un mélange sont appréciées par chromatographie en phase gazeuse (CPG): Delsi série 30.

PURIFICATION DES PRODUITS SYNTHETISES

◆ Les séparations ont été réalisées par chromatographie de type "Flash" sur colonne de gel de silice (Merk gel de silice 60, granulométrie 0,063-0,200). L'élution des produits est obtenue par un mélange de solvants de polarité appropriée.

◆ Les proportions de solvants de recristallisation sont exprimées en vol./vol.

◆ Les rectifications (sous pression réduite ou non) sont réalisées sur colonne de Cadiot.

CARACTERISATION DES PRODUITS SYNTHETISES

◆ Les rapports frontaux (Rf) sont déterminés sur gel de silice Merk 60 F254 déposé sur feuille plastique et l'élution réalisée par des solvants appropriés.

◆ Les points de fusion sont déterminés soit à l'aide d'un Banc de Köfler (et ne sont pas corrigés), soit à l'aide de l'appareil Mettler FP1.

◆ Les spectres infra-rouges sont réalisés sur un appareil Pye Unicam SP 1000, en film pour les liquides et en dispersion dans le nujol pour les solides.

◆ Les spectres RMN du proton sont effectués sur un appareil Hitachi / Perkin-Elmer R24 B (60 MHz) et Bruker AC 200 (200 MHz) en solution dans un solvant deutéré (Aldrich Chimie). Les déplacements chimiques sont exprimés en p.p.m. par rapport au tétraméthylsilane (T.M.S.).

◆ Les spectres de masse sont obtenus sur un appareil Nermag R10.10 en introduction directe [ionisation chimique (I.C.) ou impact électronique (I.E.)] au service commun de spectrométrie de masse de l'Université de Nancy I, sous la direction de J.M.ZIEGLER que nous remercions très vivement pour son amical concours lors de l'interprétation des spectres.

◆ L'analyse élémentaire des produits finaux a été réalisée par le service central de microanalyse du C.N.R.S. (Lyon).

1.1-Obtention des 3-N-alkoyle(cycloalkyle, aryle)aminobut-2-énoates d'éthyle **Ia-f**

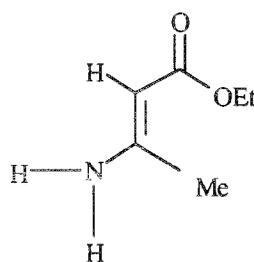
*Méthode de synthèse:

Le protocole opératoire étant identique pour tous les dérivés **Ia-f**, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention du 3-aminobut-2-énoate d'éthyle **Ia**

Dans un ballon équipé d'un appareil de Dean et Stark surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits successivement 770 mmol (100 g) d'acétylacétate d'éthyle, 100 ml du benzène, 1 ml d'acide acétique glacial et 1540 mmol (54g) d'hydroxyde d'ammonium (amine primaire pour les isologues **Ib-f**) puis le mélange réactionnel est porté à reflux durant 5 h. Au terme de ce temps de chauffage, il doit être recueilli 13,8 ml d'eau. Après retour à température ambiante, le solvant est éliminé sous vide pour obtenir 93,3 g (Rdt:94%) du produit attendu qui est alors purifié par simple rectification.

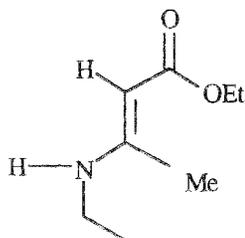
*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

3-aminobut-2-énoate d'éthyle **Ia**



$C_6H_{11}NO_2$
Mr:129,05

Liquide jaune sombre	Eb ₁₅ (°C):105	Rdt:94%
RMN ¹ H (60 MHz/CCl ₄):		
δ (ppm)	1,00-1,35	t 3H OCH ₂ Me
	1,80	s 3H Me
	3,80-4,00	q 2H OCH ₂ Me
	4,30	s 1H C=CH
	6,00	s 2H NH ₂
IR (film):		
ν (cm ⁻¹)	1640	ν C=CH
	1720	ν C=O(ester)
	3400-3500	ν NH ₂

3-N-éthylaminobut-2-énoate d'éthyle Ib

C₈H₁₅NO₂
Mr: 157,07

Liquide brun

Eb₁(°C): 80

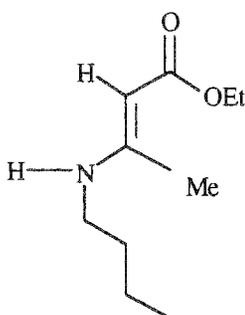
Rdt: 77%

RMN ¹H (60 MHz/CCl₄):

δ (ppm)	Chemical Shift Range	Multiplicity	Integration	Assignment
1,00-1,30	1,00-1,30	t	6H	2 OCH ₂ Me
1,80	1,80	s	3H	Me
3,00-3,50	3,00-3,50	q	2H	OCH ₂ Me
3,90-4,10	3,90-4,10	q	2H	OCH ₂ Me
4,20	4,20	s	1H	C=CH
8,05-8,10	8,05-8,10	d	1H	NH

IR (film):

ν (cm ⁻¹)	Wavenumber	Assignment
1620	1620	ν C=CH
1700	1700	ν C=O(ester)
3300	3300	ν NH

3-N-n.butylaminobut-2-énoate d'éthyle Ic

C₁₀H₁₉NO₂
Mr: 185,04

Liquide brun

Eb₁(°C): 110

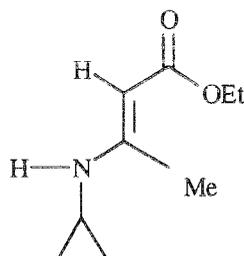
Rdt=99%

RMN ¹H (60 MHz/acétone-d₆):

δ (ppm)	Chemical Shift Range	Multiplicity	Integration	Assignment
0,30-1,00	0,30-1,00	m	12H	n.Bu+OCH ₂ Me
1,30	1,30	s	3H	Me
3,20-3,60	3,20-3,60	q	2H	OCH ₂ Me
6,70	6,70	s	1H	C=CH
8,00-8,05	8,00-8,05	d	1H	NH

IR (film):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	3300	ν NH

3-N-cyclopropylaminobut-2-énoate d'éthyle **Id**

C₉H₁₅NO₂
Mr: 169,08

Liquide brun

Eb₁(°C): 89

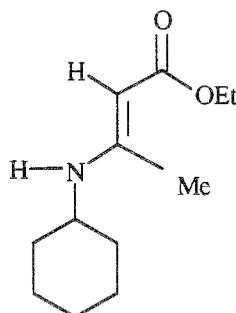
Rdt: 99%

RMN ¹H (60 MHz/CCl₄):

δ (ppm)	0,55-0,85	m	4H	c.Pr
	1,05-1,50	t	3H	OCH ₂ Me
	1,90	s	3H	Me
	2,45-2,60	m	1H	c.Pr
	3,75-4,15	q	2H	OCH ₂ Me
	4,40	s	1H	C=CH
	8,45-8,50	d	1H	NH

IR (film):

ν (cm ⁻¹)	1620	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	3300	ν NH

3-N-cyclohexylaminobut-2-énoate d'éthyle **Ie**

C₁₂H₂₁NO₂
Mr: 211,11

Liquide brun

Eb₁(°C): 131

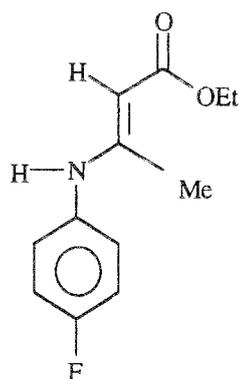
Rdt: 82%

RMN ^1H (60 MHz/ CCl_4):

δ (ppm)	0,55-1,05	m	10H	c.Hex
	1,10-1,25	t	3H	<u>OCH₂Me</u>
	1,95	s	3H	Me
	2,85-3,00	m	1H	c.Hex
	3,85-4,25	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	4,45	s	1H	<u>C=CH</u>
	6,70-6,75	d	1H	<u>NH</u>

IR (film):

ν (cm^{-1})	1620	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	3300	ν NH

3-N-4-fluorophénylaminobut-2-énoate d'éthyle **If** $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{FNO}_2$

Mr:223,11

Liquide brun

Eb₁(°C):143

Rdt:88%

RMN ^1H (60 MHz/ CCl_4):

δ (ppm)	1,00-1,35	t	3H	<u>OCH₂Me</u>
	1,75	s	3H	Me
	3,80-4,05	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	4,40	s	1H	<u>C=CH</u>
	6,80-7,05	d	4H	Ph
	7,15-7,25	d	1H	<u>NH</u>

IR (film):

ν (cm^{-1})	830	γ CH(cycle benz. 1,4-disubstitué)
	1610	ν C=CH
	1730	ν C=O(ester)
	3000	γ CH(cycle benz.)
	3200	ν NH

1.2-Obtention des 3-N-cycloalcoyl(aralcoyl,aryl)
aminobut-2-ènenitriles IIa-d

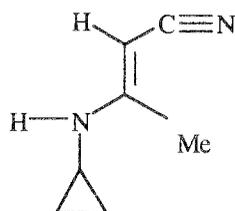
*Méthode de synthèse:

Le protocole opératoire étant identique pour tous les dérivés IIa-d, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention du 3-N-cyclopropylaminobut-2-ènenitrile IIa

Une suspension de 52 mmol (4,32 g) de 3-aminocrotononitrile, dans 105 mmol (6 g) de cyclopropylamine est porté à reflux durant 2 h. (au cours de cette réaction il se produit un abondant dégagement gazeux d'ammoniac). Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le nitrile attendu précipite, il est tout d'abord essoré puis lavé à l'éther de pétrole et enfin recristallisé dans l'éthanol à 95° qui fournit 6,35 g (Rdt:98%) du produit attendu se présentant sous forme d'une poudre de couleur crème.

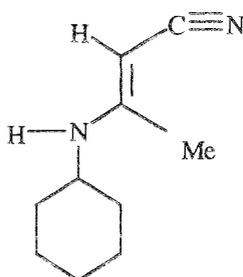
*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

3-N-cyclopropylaminobut-2-ènenitrile IIa



$C_7H_{10}N_2$
Mr:122,08

Poudre crème	F(°C):50	Rdt:98%
RMN 1H (60 MHz/ $CDCl_3$):		
δ (ppm)	0,55-1,05	m 4H c.Pr
	2,45	s 3H Me
	2,90-3,05	m 1H c.Pr
	4,05	s 1H <u>C=CH</u>
	5,15-5,20	d 1H <u>NH</u>
IR (nujol):		
ν (cm^{-1})	1620	ν C=CH
	2200	ν CN
	3310	ν NH

3-N-cyclohexylaminobut-2-ènenitrile **IIb**

$C_{10}H_{16}N_2$
Mr:164,12

Cristaux blancs

F(°C):88,9

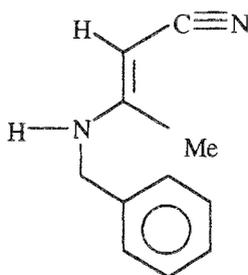
Rdt:89%

RMN 1H (60 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)				
1,00-1,95	m	10H	c.Hex	
2,15	s	3H	Me	
3,05-3,10	m	1H	c.Hex	
3,80	s	1H	C=CH	
5,00-5,15	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	
1610	ν C=CH
2200	ν CN
3300	ν NH

3-N-benzylaminobut-2-ènenitrile **IIc**

$C_{11}H_{12}N_2$
Mr:172,13

Cristaux crème

F(°C):76,5

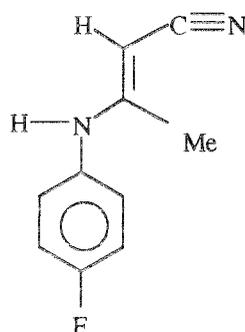
Rdt:70%

RMN 1H (60 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)			
2,30	s	3H	Me
3,65	s	1H	C=CH
4,05-4,10	d	2H	CH ₂
5,05-5,10	d	1H	NH
7,15	s	5H	Ph

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	
1610	ν C=CH
2200	ν CN
3310	ν NH

3-N-4-fluorophénylaminobut-2-ènenitrile **II_d**

C₁₀H₉FN₂
Mr:176,12

Cristaux roses clairs F(°C):106 Rdt:53%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,25	s	3H	Me	
3,75	s	1H	C=CH	
5,55	s	1H	NH	
6,80-7,15	m	4H	Ph	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610	ν	C=CH
2210	ν	CN
3310	ν	NH

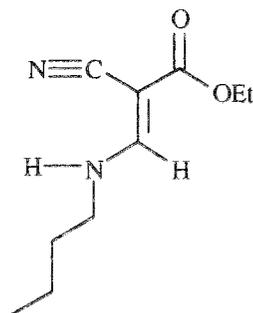
1.3-Obtention des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl) aminométhylèncyanoacétates d'éthyle **III_{a-g}**

*Méthode de synthèse:

Le protocole opératoire étant identique pour tous les dérivés **III_{a-g}**, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention du N-butylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **III_a**

Une solution de 59 mmol (10 g) de 2-cyano-3-éthoxyacrylate d'éthyle dans 100 ml d'acétone additionnée de 59 mmol (4,3 g) de n.butylamine est portée à reflux durant 22 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, une partie du solvant est éliminée sous vide et la liqueur résiduelle est abandonnée une nuit au réfrigérateur. L'ester attendu précipite sous forme de cristaux qui sont essorés et recristallisés dans l'acétone (ou un autre solvant qui est alors précisé ci-après) qui fournit 11,4 g (Rdt:99%) de **III_a**.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
(Structure et caractéristiques de **III_a** : cf. p.119)

N-n-butylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **IIIa**

$C_{10}H_{16}N_2O_2$
Mr: 196,10

Cristaux incolores

F(°C):66,2

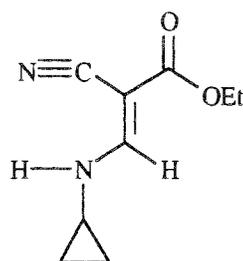
Rdt:99%

RMN 1H (60 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)				
0,45-1,15	m	9H	n.Bu	
1,25-1,45	t	3H	OCH ₂ Me	
4,15-4,55	q	2H	OCH ₂ Me	
6,15	s	1H	C=CH	
7,90-8,00	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	
1610	ν C=CH
1690	ν C=O(ester)
2200	ν CN
3200	ν NH

N-cyclopropylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **IIIb**

$C_9H_{12}N_2O_2$
Mr: 180,09

Cristaux blancs

F°C:75,5

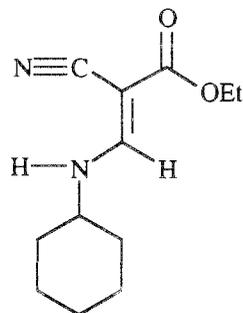
Rdt:50%

RMN ^1H (60 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,95-1,10	m	4H	c.Pr
	1,20-1,55	t	3H	<u>OCH₂Me</u>
	2,80-3,05	m	1H	c.Pr
	4,00-4,55	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	7,00-7,20	d	1H	<u>NH</u>
	7,90	s	1H	<u>C=CH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1630	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	2200	ν CN
	3200	ν NH

N-cyclohexylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **IIIc**

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$
Mr:222,12

Cristaux blancs

F(°C):128

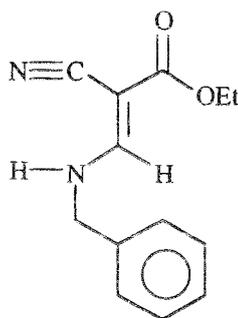
Rdt:72%

RMN ^1H (60 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,45-1,35	m	13H	c.Hex+ <u>OCH₂Me</u>
	2,85-2,95	m	1H	c.Hex
	3,35-3,55	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	7,55-7,65	d	1H	<u>NH</u>
	8,05	s	1H	<u>C=CH</u>

IR (Nujol):

ν (cm^{-1})	1640	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	2200	ν CN
	3200	ν NH

N-benzylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **III_d**

C₁₃H₁₄N₂O₂
Mr:230,13

Poudre blanche

F(°C):104

Rdt:61%

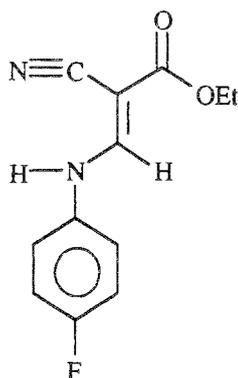
Solvant de recristallisation: acétone-éther:2-1;

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	1,25-1,35	t	3H	OCH ₂ Me
	4,15-4,25	q	2H	OCH ₂ Me
	4,60	s	2H	CH ₂
	7,15-7,25	d	1H	NH
	7,90	s	1H	C=CH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	2200	ν CN
	3300	ν NH

N-4-fluorophénylaminométhylèncyanoacétate d'éthyle **III_e**

C₁₂H₁₁FN₂O₂
Mr:234,11

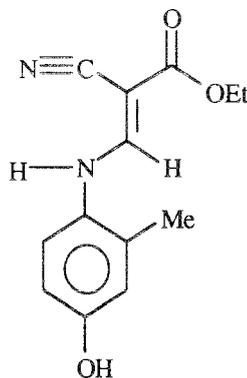
Cristaux blancs

F(°C):137

Rdt:78%

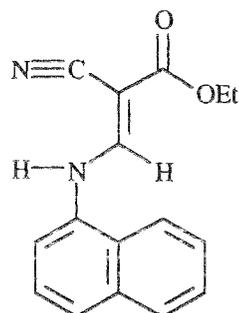
RMN ^1H (60 MHz/ CDCl_3):					
δ (ppm)	1,20-1,55	t	3H	OCH_2Me	
	4,15-4,50	q	2H	OCH_2Me	
	6,85-7,00	dd	4H	Ph	
	7,65	s	1H	$\text{C}=\text{CH}$	
	7,90	s	1H	NH	
IR (nujol):					
ν (cm^{-1})	1620		ν C=CH		
	1720		ν C=O(ester)		
	2200		ν CN		
	3300		ν NH		

N-(2-méthyl-4-hydroxyphényl)aminométhylèncyanoacétate d'éthyle IIIf



$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$
Mr:246,33

Cristaux beiges	F(°C):193	Rdt:63%		
RMN ^1H (60 MHz/ CDCl_3):				
δ (ppm)	1,30-1,45	t	3H	OCH_2Me
	2,65	s	2H	Me
	3,95-4,30	q	2H	OCH_2Me
	6,95-7,35	m	4H	Ph
	7,55	s	1H	$\text{C}=\text{CH}$
	7,75-7,85	d	1H	NH
IR (nujol):				
ν (cm^{-1})	1610		ν C=CH	
	1690		ν C=O(ester)	
	2200		ν CN	
	3200		ν NH	
	3400		ν OH	

N- α -naphthylaminométhylènenecyanoacétate d'éthyle **III_g**

C₁₆H₁₄N₂O₂
Mr:266,37

Cristaux blancs

F(°C):188

Rdt:76%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	1,25-1,30	t	3H	OCH ₂ Me
	4,25-4,35	q	2H	OCH ₂ Me
	7,00-8,05	m	8H	Napht.+C=CH
	11,25-11,35	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1605-1620	ν C=CH
	1680	ν C=O(ester)
	2210	ν CN
	3150	ν NH

1.4-Obtention des N-alcoyl(cycloalcoyl, aralcoyl, aryl)
aminométhylènemalononitriles **IV_{a-e}**

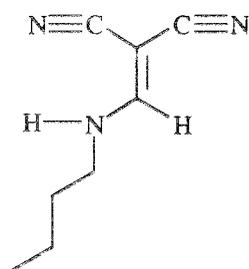
*Méthode de synthèse:

Le protocole opératoire étant identique pour tous les dérivés **IV_{a-e}**, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention du N-n.butylaminométhylènemalononitrile **IV_a**

Une suspension de 40,9 mmol (5 g) d'éthoxyméthylènemalononitrile et de 40,9 mmol (3 g) de n.butylamine dans 50 ml du benzène est portée à reflux durant 1 h (0,5 h. pour **IV_c**). Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le solvant est évaporé sous vide, le résidu est repris par de l'acétone puis additionné de charbon végétal. La filtration puis l'évaporation de la moitié de solvant donne naissance à une liqueur résiduelle qui abandonnée une nuit à 5°C, conduit à un précipité dont l'essorage fournit 3,25 g (Rdt: 53 %) du produit attendu sous forme de poudre orange.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

(Structure et caractéristiques de **IV_a** : cf. p.124)

N-n.butylaminométhylènemalononitrile **IVa**

C₈H₁₁N₃
Mr:149,27

Poudre orange

F(°C):98

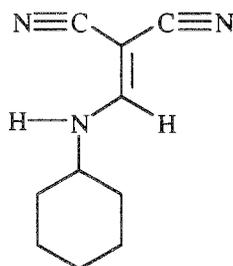
Rdt:53%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,45-1,15	m	9H	n.Bu
	7,15	s	1H	C=CH
	8,15-8,25	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1615	ν C=CH
	2210	ν CN
	3200	ν NH

N-cyclohexylaminométhylènemalononitrile **IVb**

C₁₀H₁₃N₃
Mr:175,31

Poudre jaune claire

F(°C):177

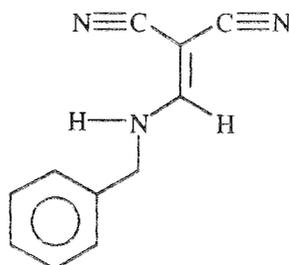
Rdt:64%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,65-1,20	m	10H	c.Hex
	3,00-3,25	m	1H	c.Hex
	7,35	s	1H	C=CH
	8,05-8,15	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1620	ν C=CH
	2200	ν CN
	3250	ν NH

N-benzylaminométhylènemalononitrile **IVc**

C₁₁H₉N₃
Mr:183,29

Poudre jaune

F(°C):150

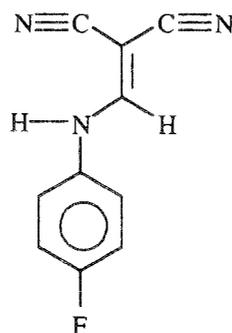
Rdt:68%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
0,65-1,20	m	10H	<u>CH</u> ₂	
7,15-7,25	m	5H	Ph	
7,55	s	1H	C= <u>CH</u>	
8,15-8,25	d	1H	<u>NH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600		ν C=CH
2200		ν CN
3150		ν NH

N-4-fluorophénylaminométhylènemalononitrile **IVd**

C₁₀H₆FN₃
Mr:187,12

Cristaux blancs

F(°C)>260

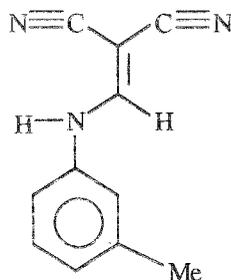
Rdt:40%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)			
7,05-7,25	m	4H	Ph
7,45	s	1H	C= <u>CH</u>
8,25-8,30	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1605		ν C=CH
2210		ν CN
3300		ν NH

N-3-méthylphénylaminométhylènemalononitrile **IVe**

C₁₁H₉N₃
Mr:183,13

Poudre jaune F(°C):191,3 Rdt:57%

RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
7,15-7,35	m	4H	Ph	
7,55	s	1H	C=CH	
8,15-8,20	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600-1680	ν	C=CH
2150	ν	CN
3300	ν	NH

1.5-Obtention du 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle **1**

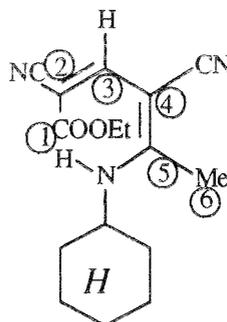
1.5.1-Obtention du stéréo-isomère (2Z,4E) **1a**

*Méthode de synthèse:

Un mélange équimoléculaire de 170 mmol (28,4 g) du 3-N-cyclohexylaminobut-2-ènenitrile **IIb** et de 172 mmol (29,1 g) de 2-cyano-3-éthoxyacrylate d'éthyle avec 0,5 ml d'acide acétique en solution dans 60 ml de toluène, est porté à 80-90°C durant 5 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante et élimination complète du solvant au rotavapor, la liqueur résiduelle est additionnée de 100 ml du mélange acétone-éther de pétrole (1-1) dans lequel l'ester **1a** précipite.

Après essorage, le produit est recristallisé dans l'éthanol à 95° pour fournir 31,2 g (Rdt:63%) de **1a** sous forme de cristaux roses.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
(Structure et caractéristiques de **1a** : cf. p. 127)

5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle **1a**

$C_{16}H_{21}N_3O_2$
Mr:287,17

Cristaux roses

F(°C):179

Rdt:63%

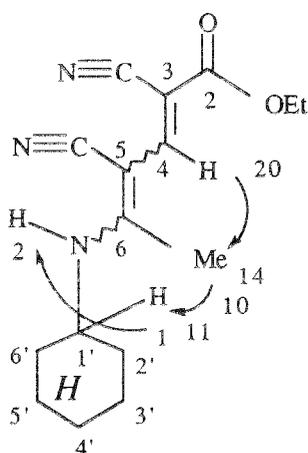
RMN 1H (500 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)
c.Hex+Me

1,20-1,40	m	5H ax+3H	
1,65-2,0	m	5H eq	c.Hex
2,40	s	3H	<u>OCH₂Me</u>
3,55-3,60	m	1H	c.Hex
4,25-4,30	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
6,65-6,70	d	1H	<u>NH</u>
	(J=8Hz)		
	(irradié à 3,6ppm=> s à 6,7)		
7,95	s	1H	<u>C=CH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1700	ν C=(ester)
	2210	ν CN
	3300	ν NH

RMN¹³C (CDCl₃):

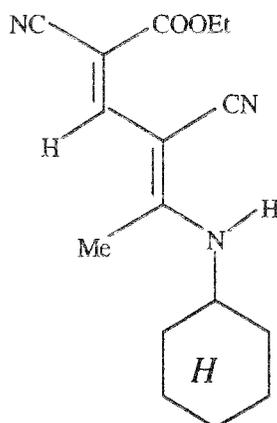
14,30	CH ₃ CH ₂
14,90	CH ₃ C(6)(large)
24,70	C3'-C5'
33,10	C2'-C6'
55,00	C1'(large)
61,60	OCH ₂
79,30	C ₅
88,80	C ₃ (large)
115,20	NC-C ₅ (large)
115,30	NC-C ₃ (³ J _{H-4} =12)
147,10	C ₄ (large)
165,00	C=O(³ J _{H-4} =6)
168,60	C ₆ (large)

1.5.1-Obtention du stéréo-isomère (2Z,4Z) **1b**

*Méthode de synthèse:

Un mélange de 17 mmol (5 g) de 5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyano-hexa-2,4-diénoate d'éthyle **1a** et de 20 mmol (4,2 g) de 1-(2,2-diéthoxyéthyl)pipéridine, en solution dans 30 ml de DMF, est chauffé à reflux durant 1 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, la majorité du solvant est évaporée au rotavapor. Après addition de 50 ml d'eau, l'ester attendu est extrait à l'aide de 3 fois 50 ml de benzène. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide. Le résidu pulvérulent ainsi obtenu est successivement lavé à l'acétone, l'éther de pétrole et l'éther éthylique et fournit 2,85 g (Rdt:57%) du produit attendu **1b** sous forme d'une poudre jaunâtre.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
(Structure et caractéristiques de **1b** : cf. p. 129)

5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4-diénoate d'éthyle **1b**

C₁₆H₂₁N₃O₂
Mr:287,17

Poudre jaune

F(°C):115

Rdt:57%

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1640	ν C=CH
	1720	ν C=O(ester)
	2210	ν CN
	3310	ν NH

SM(I.E):

m/z	205	133	41	55	160	79	67	105	177	117	287	90
Abondance relative%	100	60.7	43	30	18.5	18.5	18.5	14.6	11.5	7	5.4	5.4

m/z	272	258	242	198	184
Abondance relative%	3	3	3	2.9	2.8

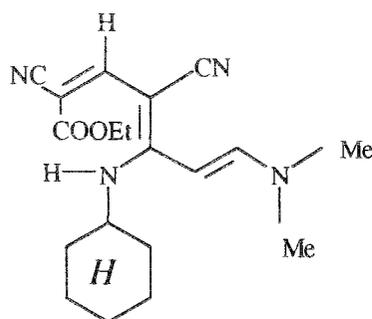
1.6-Obtention de 7-N,N-diméthylamino-5-N-cyclohexyl-amino-2,4-dicyanohepta-2,4,6-triénoate d'éthyle 2

*Méthode de synthèse:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits successivement 34 mmol (10 g) de **1a**, 50 ml de DMF et 44 mmol (5,3 g) de 1,1-diméthoxytriméthylamine (DMF diméthylacétal). Ce mélange réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après retour à température ambiante, le solvant est concentré sous vide. Après addition de 20 ml d'eau, le produit attendu est extrait à l'aide de 3 fois 30 ml de toluène. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide pour fournir 7,35 g (Rdt:62%) du produit attendu **2** sous forme de cristaux jaunes.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
(Structure et caractéristiques de **2** : cf. p. 130)

7-N,N-diméthylamino-5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4,6-trièneoate d'éthyle **2**



$C_{19}H_{26}N_4O_2$

Mr:342,21

Cristaux jaunes

F(°C):184

Rdt:62%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther de pétrole: 1-1

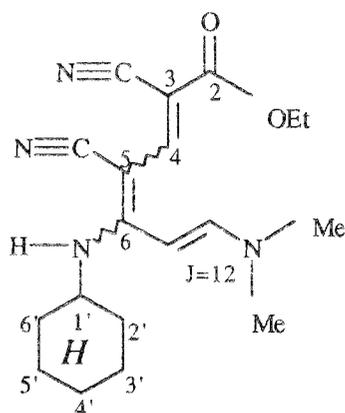
R_f:0,45

RMN ¹H (500 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,20-1,40	m	5H ax+3H	c.Hex+OCH ₂ Me	
1,65-2,00	m	5H eq	c.Hex	
3,00-3,25	m	6H	NMe ₂	
3,40-3,45	m	1H	c.Hex	
4,20-4,25	q	2H	OCH ₂ Me	
4,65-4,70	d	1H	N-CH=CH	
(J=12Hz)				
5,80-5,85	d	1H	NH	
(J=8Hz)				
(irradié à 3,45ppm=> s à 5,85)				
7,10-7,15	d	1H	N-CH=CH	
7,85	s	1H	C=CH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600		ν C=CH
1710		ν C=O(ester)
2200		ν CN
3300		ν NH

RMN¹³C (CDCl₃):

Numérotage de spectromètre RMN

14,55	CH ₃ CH ₂
24,60	C3'-C5'
25,10	C4'
32,80	C2'-C6'
39,45	NCH ₃
45,80	NCH ₃
54,30	C1'
60,60	OCH ₂
75,60	C5
81,00	C3
85,85	N-CH=CH
117,45	NC-C(5)
118,20	NC-C(3)(³ J>12)
151,25	C4(¹ J=156)
156,70	N-CH=CH
166,80	C=O(³ J _{H-4} <6)
168,40	C6

Analyse élémentaire: C₁₉H₂₆N₄O₂

	C%	H%	N%
Calc.	66,66	7,6	16,38
Tr.	66,49	7,7	16,16

1.7-Obtention de 1-N-cyclohexyl-6-N,N-diméthyl-aminovinyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile 3

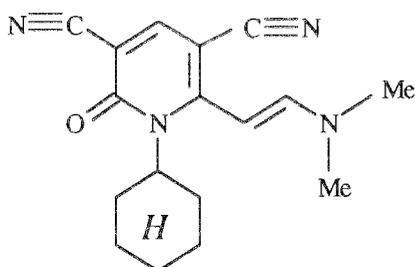
*Méthode de synthèse:

Un mélange de 69 mmol (20 g) de 7-N,N-diméthylamino-5-N-cyclohexylamino-2,4-dicyanohepta-2,4,6-triénoate d'éthyle 2 et de 88 mmol (10,6 g) de 1,1-diméthoxy-triméthylamine dans 100 ml de DMF, est porté à reflux pendant 1 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le solvant est concentré sous vide. Après addition de 50 ml d'eau, le produit attendu est extrait à l'aide de 3 fois 50 ml de toluène, Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de

magnésium et concentrées sous vide. La recristallisation du résidu obtenu dans l'éthanol à 95° fournit 10,10 g (Rdt:49%) du produit **3** sous forme de cristaux violets.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-N-cyclohexyl-6-N,N-diméthylaminovinyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile **3**



C₁₇H₂₀N₄O
Mr:296,20

Cristaux violets

F(°C):171,5

Rdt:49%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther de pétrole: 1-1

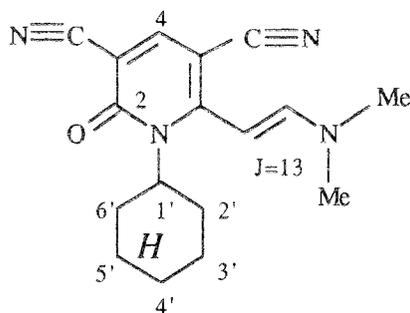
R_f:0,66

RMN ¹H (500 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,25-2,00	m	10H	c.Hex	
2,60-2,65	m	1H	c.Hex	
3,00-3,25	m	6H	NMe ₂	
4,80-4,95	d	1H	N-CH=CH	
7,55-7,60	d	1H	N-CH=CH	(J=13Hz)

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1590-1630	ν C=CH	
1680	ν C=O(cétone)	
2200	ν CN	

RMN¹³C (CDCl₃):

25,10	C4'
26,30	C3'-C5'
28,60	C2'-C6'
37,55	NCH ₃ (large)
45,50	NCH ₃ (large)
62,90	C1'
85,50	C5(J≈3)
85,85	N-CH=CH
97,55	C3
115,70	NC-C3(J=6,3)
119,20	NC-C5(J=5)
147,25	C4(¹ J=168,5)
152,00	N-CH=CH
160,00	C6
160,75	C=O

SM(I.E):

m/z	214	138	296	42	84	71	55	197	183	252	81
Abondance relative%	100	99,4	75,5	71,4	41,8	36,7	36,7	30,6	24,4	20,4	16,3

m/z	171	159
Abondance relative%	13,2	11,2

Analyse élémentaire: C₁₇H₂₀N₄O

	C%	H%	N%	O%
Calc.	68,91	6,75	18,91	5,40
Tr:	68,89	6,83	18,83	5,45

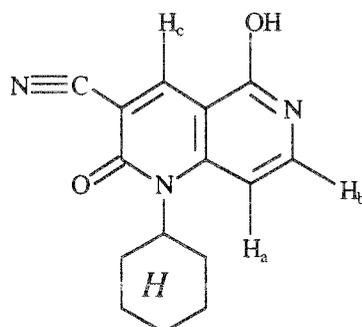
**1.8-Obtention de 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-
1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile 4**

*Méthode de synthèse:

A une suspension de 27 mmol (8,2 g) de 1-N-cyclohexyl-6-N,N-diméthylaminovinyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile 3, dans 50 ml d'acide acétique maintenu à 40°C est ajouté, goutte à goutte, en 30 min., un mélange de 280 ml à parties égales d'acide bromhydrique à 40% et d'acide acétique. Cette liqueur réactionnelle est chauffée à 50-60°C durant 3 h. Après retour à température ambiante, les solvants sont éliminés sous vide, et la liqueur résiduelle est versée dans 100 ml d'une solution saturée de carbonate de potassium maintenue à 0°C. Le précipité formé est tout d'abord lavé à l'eau puis essoré et enfin séché, ce qui fournit 7,1 g (Rdt:79%) d'une poudre beige (F>260°C) correspondant à 4.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile 4



C₁₅H₁₅N₃O₂
Mr:269,16

Poudre beige	F(°C)>260	Rdt:79%
RMN ¹ H (60 MHz/CCl ₄):		
δ (ppm)	1,00-1,20 m 10H	c.Hex
	4,25-4,70 m 1H	c.Hex
	6,80-6,95 d 1H	<u>Ha</u>
	7,30-7,45 d 1H	<u>Hb</u>
	8,40 s 1H	<u>Hc</u>
IR (nujol):		
ν (cm ⁻¹)	1630	ν C=CH
	1680	ν C=O(cétone)
	2200	ν CN
	3200	ν OH

Analyse élémentaire: C₁₅H₁₅N₃O₂

	C%	H%	N%
Calc.	65,59	5,66	14,19
Tr.	66,90	5,57	15,61

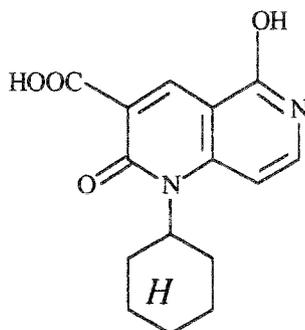
1.9-Obtention de l'acide 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique **5**

*Méthode de synthèse:

Une solution de 81 mmol (2,2 g) de 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carbonitrile **4** dans 10 ml d'eau distillée contenant 2 g d'hydroxyde de potassium est portée à reflux pendant 15 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié afin de précipiter l'acide **5** qui est d'abord lavé à l'eau puis essoré et enfin séché à l'air, ce qui fournit 1,8 g (Rdt:77%) de l'acide **5** attendu se présentant sous forme d'une poudre beige.(F>260°C).

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1-N-cyclohexyl-2-oxo-5-hydroxy-1,2-dihydro-1,6-naphtyridine-3-carboxylique **5**



C₁₅H₁₆N₂O₃
Mr:288,14

Poudre beige	F(°C)>260	Rdt:77%
RMN ¹ H (60 MHz/CCl ₄):		
δ (ppm)	1,05-1,25	m 10H c.Hex
	3,65-3,80	m 1H c.Hex
	7,00-7,05	d 1H <u>Ha</u>
	7,30-7,35	d 1H <u>Hb</u>
	8,50	s 1H <u>Hc</u>
IR (pastille de KBr):		
ν (cm ⁻¹)	1620-1650	ν C=CH
	1690	ν C=O(cétone)
	1750	ν C=O(acide)
	2990-3000	ν CH(arom.)
	3400	ν OH

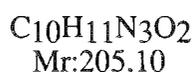
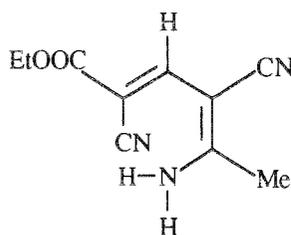
1.10-Obtention de 5-amino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle 6

*Méthode de synthèse:

Un mélange de 60 mmol (5,1 g) de 3-aminocrotononitrile et de 60 mmol (10,5 g) de 2-cyano-3-éthoxyacrylate d'éthyle dans 50 ml d'alcool absolu est chauffé à 50°C pendant 22 h. Par refroidissement, il se forme un précipité qui est essoré et séché ce qui fournit 7 g (Rdt:56%) de produit attendu 6 sous forme d'une poudre jaune.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

5-amino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle 6



Poudre jaune	F(°C):220	Rdt:56%
RMN 1H (200 MHz/DMSO- d_6):		
δ (ppm)	1,15-1,40	t 3H OCH ₂ Me
	2,30	s 3H Me
	4,00-4,35	q 2H OCH ₂ Me
	7,90	s 1H C=CH
	9,00	s 2H NH ₂
IR (pastille de KBr):		
ν (cm $^{-1}$)	1610	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	2210	ν CN
	3300-3400	ν NH ₂

1.11-Obtention de 2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle 7

*Méthode de synthèse:

1.11.1-Au départ du 3-aminocrotonitrile

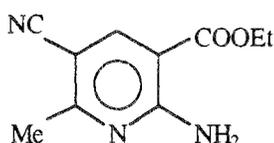
Un mélange équimoléculaire de 207 mmol (17 g) de 3-aminocrotonitrile, 200 mmol (20,2 g) de triéthylamine et de 204 mmol (34,5 g) de 2-cyano-3-éthoxyacrylate d'éthyle en solution dans 160 ml d'alcool absolu, est agité à température ambiante durant 72 h. Après élimination des solvants, le résidu huileux obtenu est lavé d'abord à l'acétone puis à l'éther pour fournir 3,3 g (Rdt:8%) de l'ester attendu 7.

1.11.2-Au départ du produit 5-amino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle 6

Une suspension de 4,87 mmol (1 g) de 5-amino-2,4-dicyanohexa-2,4-diénoate d'éthyle 6, dans 5 ml du DMSO, est portée à reflux pendant 20 min. Après avoir refroidi le ballon, la liqueur résiduelle est versée dans 50 ml d'eau, le produit attendu est extrait à l'aide de 3 fois 50 ml d'éther. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous vide pour fournir 0,3 g (Rdt:30%) de produit attendu 7 sous forme de cristaux jaunes.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

2-amino-5-cyano-6-méthylpyridine-3-carboxylate d'éthyle 7



Cristaux jaunes	F(°C):180	Rdt:30%
RMN 1H (60 MHz/ CF_3COOD):		
δ (ppm)	1,15-1,40	t 3H OCH ₂ Me
	2,40	s 3H Me
	4,00-4,45	q 2H OCH ₂ Me
	7,95	s 2H NH ₂
	8,25	s 1H C=CH
IR (pastille de KBr):		
ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1700	ν C=O(ester)
	2200	ν CN
	3300-3400	ν NH ₂

1.12-Obtention des *N,N*-diméthylaminométhylèneacétylates d'éthyle 8 - 10

*Méthode générale de synthèse.

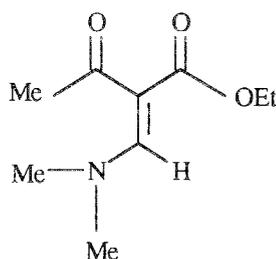
Un mélange de 170 mmol d'acétylate d'éthyle, et de 290 mmol de 1,1-diméthoxytriméthylamine dans 200 ml de benzène, est tout d'abord maintenu à température ambiante pendant 5 h. puis porté à reflux durant 2 h. Après refroidissement, le solvant est éliminé sous vide et le produit résiduel purifié comme suit selon son état :

-Liquide **8**: Distillation sous pression réduite.

-Solide **9,10**: Recristallisation dans le mélange de solvants appropriés.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

N,N-diméthylaminométhylèneacétylate d'éthyle **8**



$C_9H_{15}NO_3$
Mr: 185,07

Liquide brun Eb₁(°C):190 Rdt:99%.

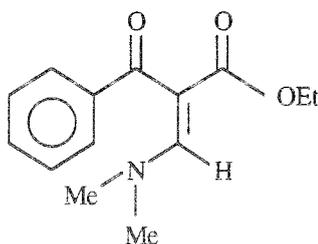
RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,00-1,15	t	3H	OCH ₂ Me	
2,00	s	3H	Me	
2,85-2,85	d	6H	N-Me ₂	
3,90-4,05	q	2H	OCH ₂ Me	
8,10	s	1H	C=CH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1700	ν C=O(ester)

N,N-diméthylaminométhylènebenzoylacétylate d'éthyle **9**



C₁₄H₁₇NO₃
Mr:247,13

Cristaux jaunes F(°C):60 Rdt:92%.

Solvant de recristallisation: hexane-éther: 1-1.

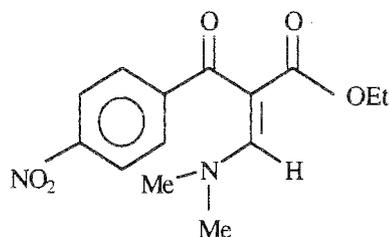
RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,85-1,00	t	3H	OCH ₂ Me
	3,05	s	6H	NMe ₂
	3,90-4,0	q	2H	OCH ₂ Me
	7,25-7,80	m	6H	Ph + C=CH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)

N,N-diméthylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle **10**



C₁₄H₁₆N₂O₅
Mr:292,11

Cristaux orange F(°C):116 Rdt:82%.

Solvant de recristallisation: acétone-éther-éther de pétrole: 2-1-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)
Eluant: acétone-éther: 1-1
R_f : 0,33

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,95-1,05	t	3H	OCH ₂ Me
	2,60-3,45	m	6H	NMe ₂
	3,95-4,15	q	2H	OCH ₂ Me
	7,80-8,25	dd	5H	Ph + C=CH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)

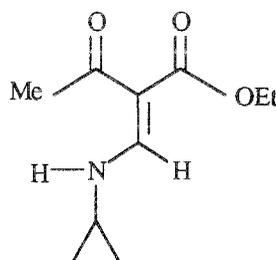
1.13-Obtention des N-cycloalcoyl(aralcoyl, aryl)-aminométhylèneacétates d'éthyle Y_{a-v}

*Méthode de synthèse:

A une suspension de 8 mmol de N,N-diméthylaminométhylèneacétates d'éthyle **8**, **9** ou **10**, dans 50 ml d'alcool absolu, sont ajoutées 12 mmol de l'amine (RNH₂) puis ce mélange réactionnel est porté 15 h. à reflux. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante puis élimination du solvant, la liqueur résiduelle est additionnée de 50 ml d'éther de pétrole et ce mélange est abandonné une nuit à 4°C. Le précipité formé est, le cas échéant, purifié par un moyen adéquat.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

N-cyclopropylaminométhylèneacétate d'éthyle. Y_a



C₁₀H₁₅NO₃
Mr:197,08

Cristaux blancs

F(°C):40

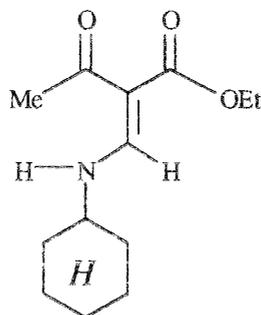
Rdt:76%.

RMN ¹H (60 MHz/CCl₄):

δ (ppm)				
0,75-1,05	m	4H	c.Pr	
1,25-1,55	t	3H	OCH ₂ Me	
2,40	s	3H	Me	
2,95-3,10	m	1H	c.Pr	
4,00-4,35	q	2H	OCH ₂ Me	
7,95-8,00	d	1H	C=CH	
10,50-11,00	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1610	ν C=CH
1650	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(ester)
3200	ν NH

N-cyclohexylaminométhylèneacétylacétate d'éthyle. **Vb**

$C_{13}H_{21}NO_3$
Mr:239,11

Cristaux beiges

F(°C):30

Rdt:85%.

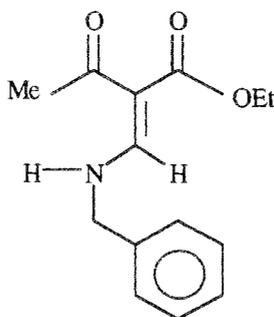
Purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant :éther-éther de pétrole:1-1).

RMN 1H (200 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)				
1,00-1,90	m	13H	c.Hex+OCH ₂ Me	
4,15-4,20	q	2H	OCH ₂ Me	
2,40	s	3H	Me	
3,10-3,25	m	1H	c.Hex	
7,90-8,05	d	1H	C=CH	
11,00-11,10	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})		
1600	ν C=CH	
1640	ν C=O(cétone)	
1710	ν C=O(ester)	
3150	ν NH	

N-benzylaminométhylèneacétylacétate d'éthyle. **Vc**

$C_{14}H_{17}NO_3$
Mr:247,13

Cristaux blancs

F(°C):90

Rdt:80%.

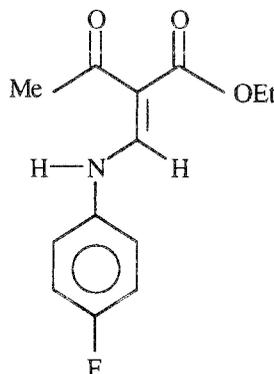
Solvant de recristallisation: éthanol à 95°.

RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	1,15-1,20	t	3H	OCH_2Me
	2,55	s	3H	Me
	4,10-4,25	q	2H	OCH_2Me
	4,60-4,70	d	2H	CH_2
	7,20-7,45	m	5H	Ph
	8,00-8,05	d	1H	$\text{C}=\text{CH}$
	11,25-11,30	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1655	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(ester)
	3160	ν NH

N-4-fluorophénylaminométhylèneacétylacétate d'éthyle. **Vd**

$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$
Mr:251,11

Cristaux blancs

F($^{\circ}\text{C}$):60

Rdt:63%.

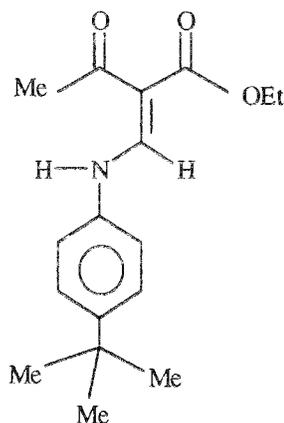
Solvant de recristallisation: éther-éther de pétrole: 1-1.

RMN ^1H (60 MHz/ CCl_4):

δ (ppm)	1,1-1,3	t	3H	OCH_2Me
	2,4	s	3H	Me
	3,9-4,3	q	2H	OCH_2Me
	6,9-7,1	m	4H	Ph
	8,1-8,2	d	1H	$\text{C}=\text{CH}$
	11,05-11,15	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1605	ν C=CH
	1620-1650	ν C=O(cétone)
	1715	ν C=O(ester)
	3100	ν NH

N-4-*t*-butylphénylaminométhylèneacétate d'éthyle. **Ve**

$C_{17}H_{23}NO_3$
Mr:289

Poudre crème

F(°C):28

Rdt:52%.

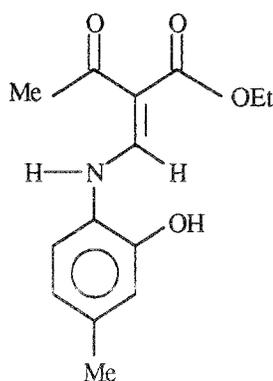
Purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant: éther-éther de pétrole : 2-8).

RMN 1H (200 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)				
1,25-1,45	m	12H	t.Bu+OCH ₂ Me	
2,55	s	3H	Me	
4,25-4,30	q	2H	OCH ₂ Me	
7,00-7,45	dd	4H	Ph	
8,45	s	1H	C=CH	
12,60-12,65	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600	ν C=CH	
1650	ν C=O(cétone)	
1705	ν C=O(ester)	
3000	ν NH	

N-(2-hydroxy-4-méthylphényl)aminométhylèneacétate d'éthyle. **Vf**

$C_{14}H_{17}NO_4$
Mr:263,15

Poudre jaune

F(°C):153

Rdt:80%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

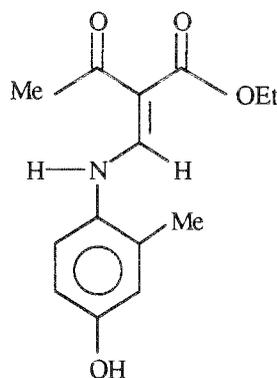
Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,28RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,35-1,40	t	3H	OCH ₂ Me	
2,15	s	3H	Me	
2,55	s	3H	Me	
4,25-4,35	q	2H	OCH ₂ Me	
6,50-7,05	m	3H	Ph	
7,25	s	1H	OH	
8,55	s	1H	C=CH	
11,00-11,05	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1700	ν C=O(ester)
3300	ν NH
3350	ν OH

N-(2-méthyl,4-hydroxyphényl)aminométhylèneacétylacétate d'éthyle. **Vg**C₁₄H₁₇NO₄

Mr:263,15

Poudre brune

F(°C):142

Rdt:73%.

Solvant de recristallisation: acétone-éther-éther de pétrole: 2-1-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant:éther-éther de pétrole: 1-1

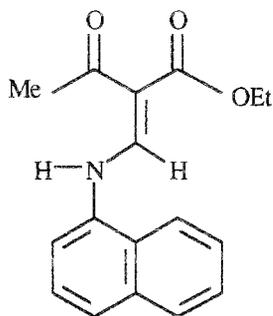
R_f:0,37

RMN ^1H (200MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)				
1,25-1,35	t	3H	OCH ₂ Me	
2,15	s	3H	Me	
2,20	s	3H	Me	
4,15-4,20	q	2H	OCH ₂ Me	
6,80-7,25	m	3H	Ph	
8,45-8,45	d	1H	C=CH	
9,45	s	1H	OH	
12,85-12,90	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610	ν C=CH	
1630	ν C=O(cétone)	
1690	ν C=O(ester)	
3300	ν NH	
3400	ν OH	

N-1-naphtylaminométhylèneacétylacétate d'éthyle. VhC₁₇H₁₇NO₃

Mr:283,18

Cristaux crème

F(°C):96

Rdt:74%.

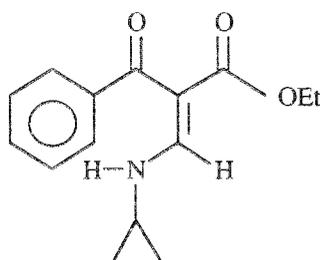
Solvant de recristallisation: acétone-éther-éther de pétrole: 2-2-1.

RMN ^1H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,30-1,40	t	3H	OCH ₂ Me	
2,65	s	3H	Me	
4,20-4,35	q	2H	OCH ₂ Me	
7,45-8,15	m	8H	Napht.+C=CH	
8,65-8,75	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600	ν C=CH	
1650	ν C=O(cétone)	
1700	ν C=O(ester)	
3200	ν NH	

N-cyclopropylaminométhylènebenzoylacétate d'éthyle. **V_i**

C₁₅H₁₇NO₃
Mr:259,16

Cristaux beiges

F(°C):58

Rdt:89%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

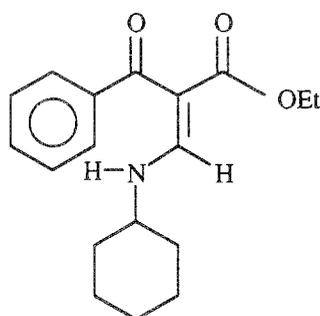
Eluant: éther-éther de pétrole: 1-1

R_f:0,21RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
0,85-1,00	m	7H	c.Pr+OCH ₂ Me	
2,90-3,10	m	1H	c.Pr	
3,90-4,05	q	2H	OCH ₂ Me	
7,20-7,45	m	5H	Ph	
8,25-8,25	d	1H	C=CH	
10,60-10,65	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600	ν C=CH	
1640	ν C=O(cétone)	
1700	ν C=O(ester)	
3200	ν NH	

N-cyclohexylaminométhylènebenzoylacétate d'éthyle. **V_j**

C₁₈H₂₃NO₃
Mr:301,19

Cristaux crème

F(°C):82

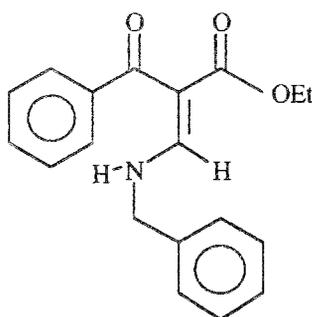
Rdt:91%.

RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,90-1,10	t	3H	<u>OCH₂Me</u>
	1,20-2,05	m	10H	c.Hex
	3,25-3,30	m	1H	c.Hex
	3,95-4,05	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	7,25-7,65	m	5H	Ph
	8,00-8,15	d	1H	<u>C=CH</u>
	10,60-10,65	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1610	ν C=CH
	1645	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)
	3100	ν NH

N-benzylaminométhylènebenzoylacétate d'éthyle. **IIk**

$\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_3$
Mr:309,20

Cristaux blancs

F(°C):112

Rdt:97%.

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

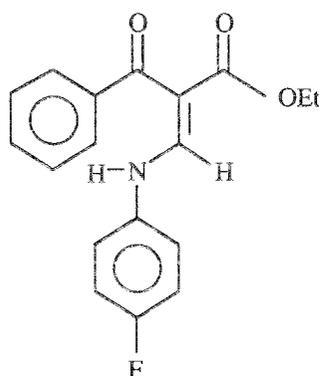
Éluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,42RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,90-1,05	t	3H	<u>OCH₂Me</u>
	3,90-4,00	q	2H	<u>OCH₂Me</u>
	4,60-4,65	d	2H	CH ₂
	7,20-7,60	m	10H	2Ph
	8,20-8,25	d	1H	<u>C=CH</u>
	10,80-10,85	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1605	ν C=CH
	1630	ν C=O(cétone)
	1680	ν C=O(ester)
	3210	ν NH

N-4-fluorophénylaminométhylènebenzoylacétate d'éthyle. **V_l**

$C_{18}H_{16}FNO_3$
Mr:313,19

Cristaux crème

F(°C):110

Rdt:40%.

Solvant de recristallisation: éther-éther de pétrole:2-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: éther-éther de pétrole: 1-1

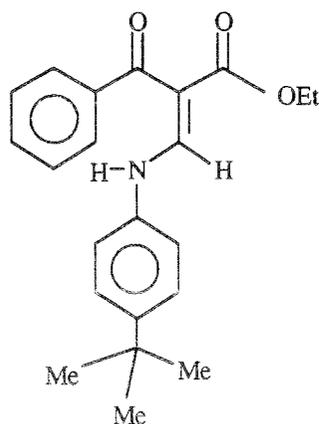
Rf:0,48

RMN 1H (200 MHz/ $CDCl_3$):

δ (ppm)				
0,90-1,15	t	3H	OCH_2Me	
4,00-4,15	q	2H	OCH_2Me	
7,00-7,80	m	9H	2Ph	
8,15-8,20	d	1H	$C=CH$	
11,00-11,05	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	
1610	$\nu C=CH$
1650	$\nu C=O$ (cétone)
1710	$\nu C=O$ (ester)
3100	νNH

N-4-t.butylphénylaminométhylènebenzoylacétate d'éthyle. **V_m**

C₂₂H₂₅NO₃
Mr:351,24

Poudre jaune

F(°C):94

Rdt:90%.

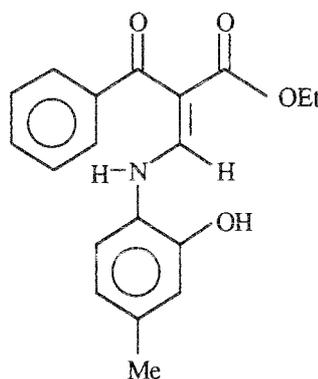
RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,80-1,00	t	3H	OCH ₂ Me
	1,25-1,30	m	9H	t.Bu
	4,00-4,15	q	2H	OCH ₂ Me
	7,00-7,85	m	8H	2Ph
	8,20-8,55	d	1H	C=CH
	10,95-11,05	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1630	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)
	3100	ν NH

N-(2-hydroxy-4-méthylphényl)aminométhylènebenzovlacétate d'éthyle. **Vn**



C₁₉H₁₉NO₄
Mr:325,20

Poudre jaune

F(°C):198

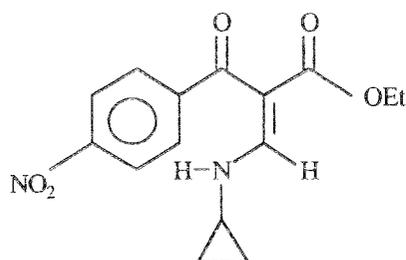
Rdt:66%.

RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	1,05-1,15	t	3H	OCH ₂ Me
	2,25	s	3H	Me
	4,00-4,10	q	2H	OCH ₂ Me
	6,95-7,00	m	2H	Ph
	7,45-7,85	m	6H	2Ph
	8,45-8,85	d	1H	C=CH
	10,65	s	1H	OH
	11,05-11,20	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1630	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)
	3100	ν NH
	3250	ν OH

N-cyclopropylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. V₀

C₁₅H₁₆N₂O₅
Mr:303,16

Cristaux jaunes

F(°C):98

Rdt:93%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

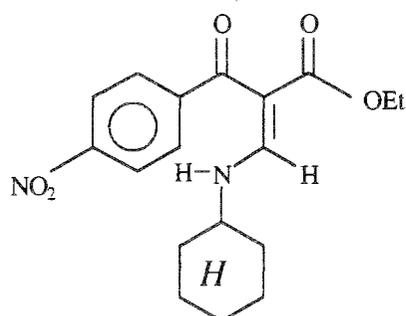
Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,4RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
0,70-1,05	m	7H	c.Pr+OCH ₂ Me	
3,05-3,10	m	1H	c.Pr	
3,75-3,85	q	2H	OCH ₂ Me	
7,45-7,60	d	2H	Ph	
8,20-8,40	m	3H	Ph+C=CH	
11,05-11,10	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600		ν C=CH
1640		ν C=O(cétone)
1700		ν C=O(ester)
3200		ν NH

N-cyclohexylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. V_p

C₁₈H₂₂N₂O₅
Mr:345,19

Poudre blanche

F(°C):129

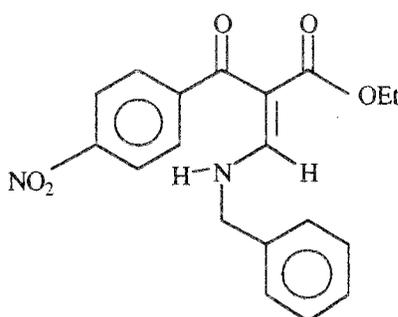
Rdt:93%.

RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,80-1,05	t	3H	OCH_2Me
	1,20-2,05	m	10H	c.Hex
	3,45-3,50	m	1H	c.Hex
	3,90-4,10	q	2H	OCH_2Me
	7,40-7,55	d	2H	Ph
	8,15-8,20	m	3H	Ph +C=CH
	10,55-11,00	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1620	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)
	3200	ν NH

N-benzylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. **Vq**

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$
Mr:366,20

Poudre blanche

F($^{\circ}\text{C}$):120

Rdt:90%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

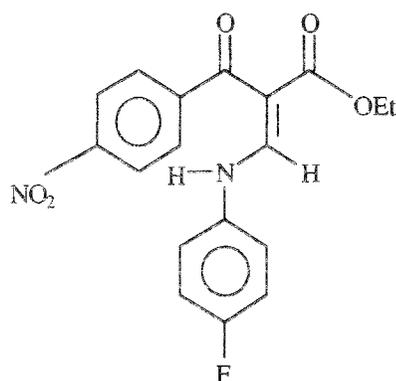
Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,42RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,85-1,15	t	3H	OCH_2Me
	3,95-4,10	q	2H	OCH_2Me
	4,50-4,60	d	2H	CH_2
	7,35-7,70	m	7H	2Ph
	8,20-8,45	m	3H	Ph +C=CH
	10,55-11,05	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1610	ν C=CH
	1620	ν C=O(cétone)
	1680	ν C=O(ester)
	3250	ν NH

N-4-fluorophénylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle **V_r**

C₁₈H₁₅FN₂O₅
Mr:357,19

Poudre jaune

F(°C):120

Rdt:98%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

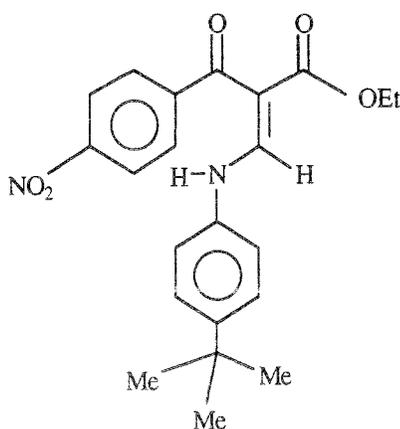
Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,58RMN ¹H (200MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
0,95-1,10	t	3H	OCH ₂ Me	
4,00-4,15	q	2H	OCH ₂ Me	
7,20-7,55	m	5H	Ph+NH	
7,70-8,30	m	4H	Ph	
8,45-8,60	d	1H	C=CH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610	ν C=CH	
1640	ν C=O(cétone)	
1720	ν C=O(ester)	
3200	ν NH	

N-4-t.butylphénylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. **V_s**

C₂₂H₂₄N₂O₅
Mr:396,24

Poudre orange

F(°C):94

Rdt:79%.

Solvant de recristallisation: éther-éther de pétrole-acétone: 1-1-2.

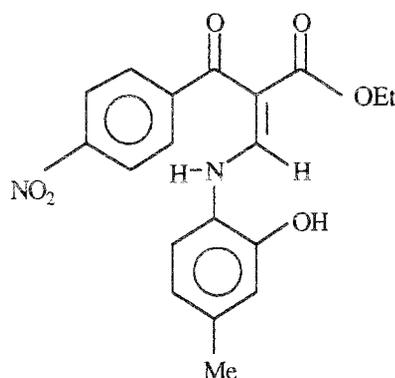
RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,80-0,90	t	3H	OCH ₂ Me
	1,05	s	9H	t. Bu
	4,00-4,15	q	2H	OCH ₂ Me
	7,10-8,25	m	8H	2Ph
	8,40-8,60	d	1H	C=CH
	11,05-11,10	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(ester)
	3050	ν NH

N-(2-hydroxy-4-méthylphényl)aminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. Vt



C₁₉H₁₈N₂O₆
Mr:369,20

Poudre jaune

F(°C):260

Rdt:95%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

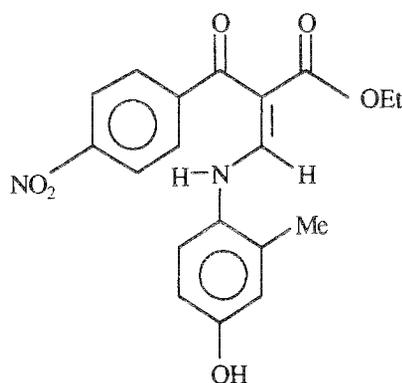
R_f:0,23RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	0,60-0,80	t	3H	OCH ₂ Me
	2,05	s	3H	Me
	3,75-3,80	q	2H	OCH ₂ Me
	6,50-7,90	m	7H	2Ph
	8,50-8,55	d	1H	C=CH
	10,60	s	1H	OH
	11,15-11,25	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(ester)
	3300	ν NH
	3350	ν OH

N-(2-méthyl-4-hydroxyphényl)aminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. **VII**



C₁₉H₁₈N₂O₆
Mr:369,20

Poudre jaune

F(°C):192

Rdt:92%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

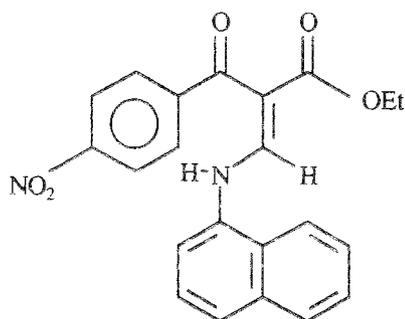
Eluant:éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,31RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	0,90-1,15	t	3H	OCH ₂ Me
	1,50	s	1H	OH
	2,40	s	3H	Me
	4,00-4,15	q	2H	OCH ₂ Me
	6,75-8,2	m	7H	Ph
	8,4-8,6	dd	1H	C=CH
	11,55-11,60	d	1H	NH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1630	ν C=O(cétone)
	1670	ν C=O(ester)
	3300	ν NH
	3400	ν OH

N-1-naphtylaminométhylène-4-nitrobenzoylacétate d'éthyle. **Vv**

C₂₂H₁₈N₂O₅
Mr:389,24

Poudre jaune

F(°C):155

Rdt:75%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éther-éther de pétrole: 2-1

R_f:0,66

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
0,95-1,15	t	3H	OCH ₂ Me	
4,05-4,10	q	2H	OCH ₂ Me	
7,50-8,35	m	11H	Napht.	
8,60-8,65	d	1H	C=CH	
9,55-9,65	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1620	ν C=O(cétone)
1710	ν C=O(ester)
3250	ν NH

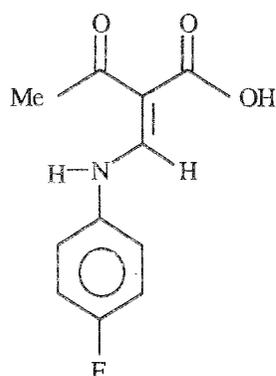
**1.14-Obtention des acides N-(4-fluorophényl)
aminométhylèneacétylactiques 11 et 12**

*Méthode de synthèse:

Une suspension de 2,7 mmol des esters **Vd** ou **Vr**, dans 20 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 5%, est chauffée à reflux durant 21 h. Après refroidissement, le mélange réactionnel est neutralisé par addition d'acide chlorhydrique dilué. Le précipité formé est tout d'abord lavé puis essoré et finalement recristallisé dans un solvant approprié.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

(Structure et caractéristiques de **11** et **12** : cf. p. 156)

Acide N-(4-fluorophényl)aminométhylèneacétylcétique **11**

$C_{11}H_{10}FNO_3$
Mr:247.27

Poudre crème

F(°C):68

Rdt:9%

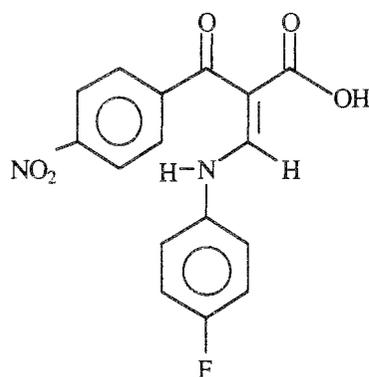
Solvant de recristallisation: éther-éther de pétrole: 2-1.

RMN 1H (200MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)				
3,25	s	3H	Me	
7,20-7,65	m	4H	Ph	
8,20	s	1H	C=CH	
8,85-8,95	d	1H	NH	
10,25	s	1H	COOH	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})		
1605	ν C=CH	
1660	ν C=O(cétone)	
1750	ν C=O(acide)	
3200	ν NH	

Acide N-(4-fluorophényl)aminométhylène-4-nitrobenzoylacétique **12**

$C_{16}H_{11}FN_2O_5$
Mr:329,33

Poudre orange

F(°C)>260

Rdt:97%

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°.

RMN ^1H (200 MHz/DMSO- d_6 +CDCl $_3$):

δ (ppm)	6,85-6,90	d	1H	C=CH
	7,85-8,40	m	9H	Ph+NH
	12,05	s	1H	COOH

IR (nujol):

ν (cm $^{-1}$)	1600	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(acide)
	3200	ν NH

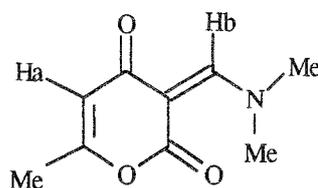
1.15-Obtention de la 3-N,N-diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 13

*Méthode de synthèse:

Un mélange de 200 mmol (25 g) de 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone et d'un large excès de 370 mmol (44 g) de 1,1-diméthoxytriméthylamine (DMF diméthylacétal), dans 100 ml de dioxanne, est tout d'abord agité à température ambiante durant 15 min. puis maintenu 12 h. à 4°C. Au terme de ce temps réactionnel, la pyrone attendue précipite, elle est alors essorée puis lavée à l'aide d'éther et enfin recristallisée dans l'éthanol à 95°, avec un rendement de 73%.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

3-N,N-diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone **13**



C $_9$ H $_{11}$ NO $_3$
Mr:181,27

Cristaux beiges.

F(°C):148

Rdt:73%.

CCM:

Support: gel de silice 60 F $_{254}$ (feuille de plastique)

Eluant: éthanol à 95°

R $_f$:0,4

RMN ^1H (60 MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)	1,95	s	3H	Me
	3,10	s	3H	N-Me
	3,45	s	3H	N-Me
	5,50	s	1H	<u>H</u> _a
	8,10	s	1H	<u>H</u> _b

IR (nujol):

ν (cm $^{-1}$)	1620	ν C=CH
	1660	ν C=O(cétone)
	1690	ν C=O(lactone)

1.16-Obtention des 3-N-alcoyl(cycloalcoyl,aryl)amino-méthylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrones 14 à 40

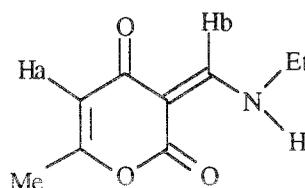
*Méthode de synthèse:

Le protocole opératoire étant identique pour tous les dérivés 14-40, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention du 3-N-éthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 14.

A 16,5 mmol (3 g) de 3-N,N-diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone (13) dissoutes dans 30 ml de 2-méthoxyéthanol (méthylcellosolve®), sont ajoutées 26 mmol (1,2 g) d'éthylamine. Après agitation à température ambiante durant 15 min., le mélange réactionnel est maintenu durant 5 h à 4°C. Le précipité formé, lavé à l'éther, fournit 0,9 g (Rdt:29%) de 3-N-éthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone se présentant sous forme de cristaux crème (F:148°C).

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

3-N-éthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 14



C₉H₁₀NO₃
Mr:195,09

Cristaux crème

F(°C):148

Rdt:29%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

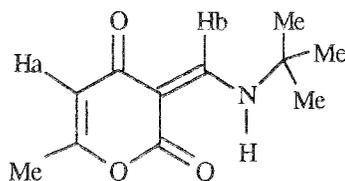
R_f:0,8

RMN ¹H (60 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
1,05-1,35	t	3H	CH ₂ Me	
3,15	s	3H	Me	
3,80-4,05	q	3H	CH ₂ Me	
5,65	s	1H	H _a	
8,05	s	1H	H _b	
9,15	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1630-1680	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(lactone)
3200	ν NH

3--N-t.butylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 15

C₁₁H₁₅NO₃
Mr:209,41

Cristaux orange

F(°C):98

Rdt:74%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

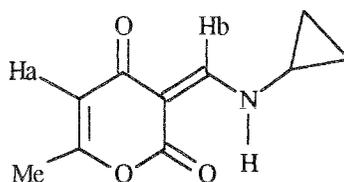
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,5RMN ¹H (200MHz/acétone-d₆):

δ (ppm)				
1,45	s	9H	t.Bu	
2,15	s	3H	Me	
2,90-2,95	d	1H	NH	
5,65	s	1H	<u>Ha</u>	
8,20	s	1H	<u>Hb</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1590	ν	C=CH
1630-1660	ν	C=O(cétone)
1700	ν	C=O(alctone)
3100	ν	NH

3-N-cyclopropylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 16

C₁₀H₁₁NO₃
Mr:193,27

Cristaux orange

F(°C):200

Rdt:35%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

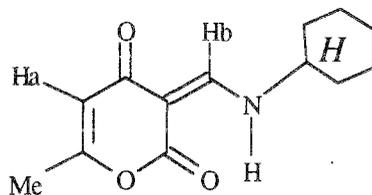
R_f:0,87

RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	1,05-1,40	m	4H	c.Pr
	2,25	s	3H	Me
	3,10-3,20	m	1H	c.Pr
	5,80-5,85	s	1H	<u>Ha</u>
	8,40-8,62	d	1H	<u>Hb</u>
	12,00-12,05	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1610	ν C=CH
	1640-1655	ν C=O
	1710	ν OC=O
	3200	ν NH

3-N-cyclohexylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 17

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$
Mr:235,45

Cristaux jaunes

F(°C):135

Rdt:27%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

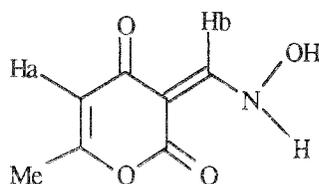
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,35RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	0,95-1,90	m	10H	c.Hex
	2,05	s	3H	Me
	3,10-3,15	m	1H	c.Hex
	5,35	s	1H	<u>Ha</u>
	8,05-8,15	d	1H	<u>Hb</u>
	11,95-12,00	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1620	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3250	ν NH

3-N-hydroxyaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 18C₇H₇NO₄

Mr:169,27

Poudre brune

F(°C):112

Rdt:81%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

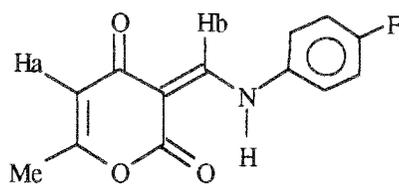
Rf:0,32

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,80	s	3H	Me	
5,75	s	1H	<u>Ha</u>	
7,75	s	1H	<u>Hb</u>	
11,05	s	1H	<u>OH</u>	
12,00-12,05	d	1H	<u>NH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1650	ν C=O(cétone)
1700	ν C=O(lactone)
3200	ν NH
3300	ν OH

3-N-(4-fluorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 19C₁₃H₁₀FNO₃

Mr:247,27

Poudre crème

F(°C):220

Rdt:89%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

Rf:0,57

RMN ¹H (60 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	6,25	s	1H	<u>H_a</u>
	6,60-7,35	m	4H	Ph
	8,70	s	1H	<u>H_b</u>
	11,00-11,05	d	1H	<u>NH</u>

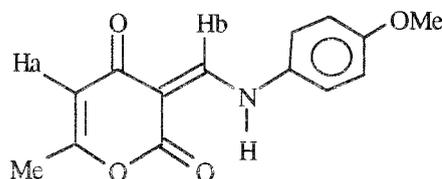
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1660	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3200	ν NH

SM(I.E)::

m/z	247	95	135	98	162	108	75	43	85	69	53
Abondance relative%	100	49,2	38,5	30,7	25,3	24,6	20	20	17,7	17,7	13,8

m/z	122	204	57	218	148	232	190
Abondance relative%	10,7	8,5	5,3	3,8	3,8	3	3

3-N-(4-méthoxyphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 20

C₁₄H₁₃NO₄
Mr:259,43

Cristaux jaunes clairs

F(°C):192

Rdt:99,6%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,68RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	3,85	s	3H	OMe
	5,85	s	1H	<u>H_a</u>
	6,95-7,45	m	4H	Ph
	8,05	s	1H	<u>H_b</u>
	8,65-8,75	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

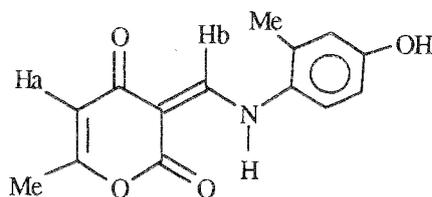
ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1630-1650	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(lactone)
	3200	ν NH

SM(I.E):

m/z	259	216	77	104	132	92	43	85	53	244	174	69
Abondance relative%	100	16.9	16.9	15.3	13.8	12.3	12.3	10.7	9.2	7.7	7.7	6.9

m/z	98	147	160	137	202	244
Abondance relative%	6.1	5.6	4.6	4.6	3.8	3.0

3-N-(2-méthyl-4-hydroxyphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 21



C₁₄H₁₃NO₄
Mr:259,42

Poudre jaune

F(°C):220

Rdt:99,5%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther:1-1

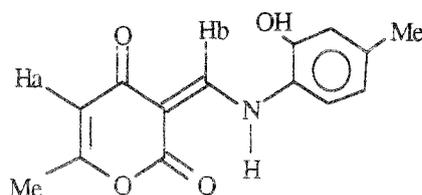
R_f:0,5RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	2,15	s	3H	Me
	2,25	s	3H	Me Ph
	5,85	s	1H	H _a
	6,85-7,45	m	3H	Ph
	8,6-8,65	d	1H	H _b
	9,85-9,95	d	1H	NH
	11,05	s	1H	OH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1605	ν C=CH
	1655	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(lactone)
	3300	ν NH
	3500	ν OH

3-N-(2-hydroxy-4-méthylphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 22



C₁₄H₁₃NO₄

164

Mr:259,42

Poudre jaune

F(°C)>260

Rdt:80%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

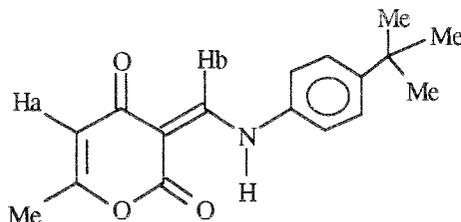
Rf:0,65

RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
2,10	s	3H	Me	
2,21	s	3H	<u>Me</u> Ph	
5,85	s	1H	<u>H_a</u>	
5,65-6,82	m	2H	Ph+ <u>NH</u>	
7,61-7,65	d	1H	Ph	
8,85	s	1H	<u>H_b</u>	
9,90	s	1H	<u>OH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610		ν C=CH
1650		ν C=O(cétone)
1710		ν C=O(lactone)
3200		ν NH
3400		ν OH

3-N-(4-t.butylphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone **23**C₁₇H₁₉NO₃

Mr:285,50

Cristaux crème

F(°C):165

Rdt:83%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

Rf:0,69

RMN ¹H (200 MHz/acétone-*d*₆):

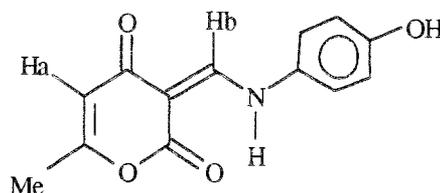
δ (ppm)				
1,25	s	9H	t.Bu	
2,25	s	3H	Me	
2,85-2,95	d	1H	<u>NH</u>	
5,75	s	1H	<u>H_a</u>	
7,45-7,60	m	4H	Ph	
8,85	s	1H	<u>H_b</u>	

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1655	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3150	ν NH

SM(I.E):

m/z	270	285	115	91	43	85	186	77	103	69	242	53
Abondance relative%	100	36,5	12,3	12,3	9,2	7,7	6,15	6	4,6	4,6	3,8	3,0

3-N-(4-hydroxyphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 24

$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_4$
Mr:245,41

Poudre jaune

F(°C)>260

Rdt:96%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

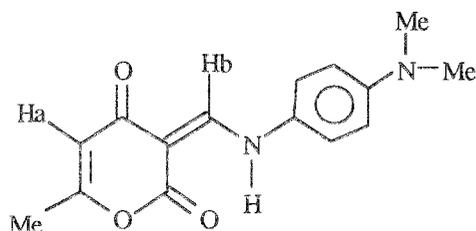
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,5RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	3,15	s	1H	<u>OH</u>
	5,85	s	1H	<u>H_a</u>
	6,83-7,45	m	4H	Ph
	8,65-8,65	d	1H	<u>H_b</u>
	9,75-9,80	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(lactone)
	3180	ν NH
	3280	ν OH

3-N-(4-N,N-diméthylaminophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 25

$C_{15}H_{16}N_2O_3$
Mr:272,47

Poudre jaune

F(°C):256

Rdt:97%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,41RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
1,25-1,40	s	6H		NMe ₂
2,25	s	3H		Me
5,85	s	1H		H _a
6,80-7,55	m	5H		Ph+NH
8,65	s	1H		H _b

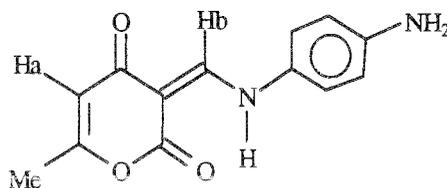
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1590		ν C=CH
1625-1650		ν C=O(cétone)
1695		ν C=O(lactone)
3200		ν NH

SM(I.E):

m/z	272	187	159	43	85	77	117	69	135	145	104	229
Abondance relative%	100	21.5	15.4	14.6	14.6	10.7	9.2	8.4	7.6	6.15	6.15	4.6

m/z	53	173	257
Abondance relative%	4.5	3.8	1.0

3-N-(4-aminophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 26

$C_{13}H_{12}N_2O_3$
Mr:244,41

Poudre jaune

F(°C)>260

Rdt:89%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

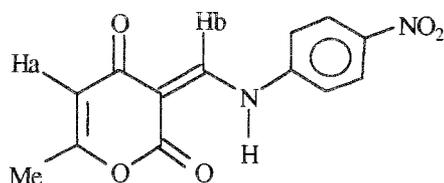
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,58RMN ¹H (200 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)	2,00	s	3H	Me
	6,15	s	1H	<u>H_a</u>
	7,10-7,35	m	5H	Ph+ <u>NH</u>
	8,60	s	1H	<u>H_b</u>
	10,55	s	2H	<u>NH₂</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1625-1655	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3200-3300	ν NH ₂

3-N-(4-nitrophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 27C₁₃H₁₀N₂O₅
Mr:274,45

Cristaux beiges

F(°C)>260

Rdt:40%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

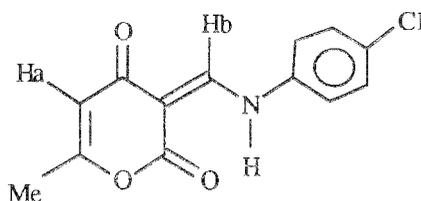
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,63RMN ¹H (200 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)	2,15	s	3H	Me
	6,15	s	1H	<u>H_a</u>
	7,50-8,10	m	4H	Ph
	9,10	s	1H	<u>H_b</u>
	11,05-11,10	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1615-1660	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3200	ν NH

3-N-(4-chlorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 28

$C_{13}H_{10}ClNO_3$
Mr:263,83

Poudre crème

F(°C):242

Rdt:93%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

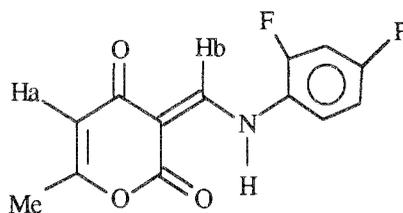
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,85RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
5,75	s	1H	<u>Ha</u>	
7,15-7,45	m	4H	Ph	
8,50-8,65	d	1H	<u>Hb</u>	
13,45-13,55	d	1H	<u>NH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610		ν C=CH
1650		ν C=O(cétone)
1710		ν C=O(lactone)
3250		ν NH

3-N-(2,4-difluorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 29

$C_{13}H_9F_2NO_3$
Mr:265,38

Cristaux jaunes

F(°C):234

Rdt:75%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

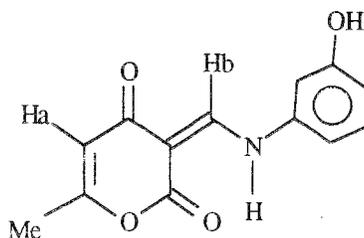
R_f:0,71

RMN ^1H (60 MHz/ CF_3COOD):

δ (ppm)	2,05	s	3H	Me
	6,15	s	1H	<u>Ha</u>
	6,50-7,50	m	4H	Ph+ <u>NH</u>
	8,80	s	1H	<u>Hb</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1610	ν C=CH
	1665	ν C=O(cétone)
	1715	ν C=O(lactone)
	3200	ν NH

3-N-(3-hydroxyphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 30

$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_4$
Mr:245,42

Poudre crème

F($^{\circ}\text{C}$):258

Rdt:52%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

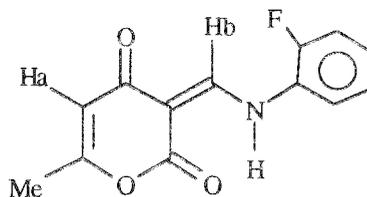
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,77RMN ^1H (200 MHz/ $\text{DMSO}-d_6$):

δ (ppm)	2,55	s	3H	Me
	3,40	s	1H	<u>OH</u>
	5,85	s	1H	<u>Ha</u>
	6,65-7,25	m	4H	Ph
	8,65	s	1H	<u>Hb</u>
	9,65-9,80	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1630-1650	ν C=O(cétone)
	1725	ν C=O(lactone)
	3100	ν NH
	3200	ν OH

3-N-(2-fluorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 31

$C_{13}H_{10}FNO_3$
Mr:247,27

Poudre jaune

F(°C):212

Rdt:75%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

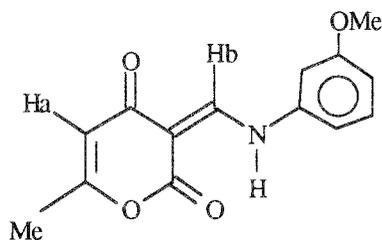
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,7RMN ¹H (200 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
2,40	s	3H	Me	
6,85	s	1H	<u>Ha</u>	
7,25-7,85	m	4H	Ph	
9,25	s	1H	<u>Hb</u>	
11,65-11,75	d	1H	<u>NH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1630-1660	ν C=O(cétone)
1705	ν C=O(lactone)
3300	ν NH

3-N-(3-méthoxyphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 32

$C_{14}H_{13}NO_4$
Mr:259,42

Poudre beige

F(°C):163

Rdt:87%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

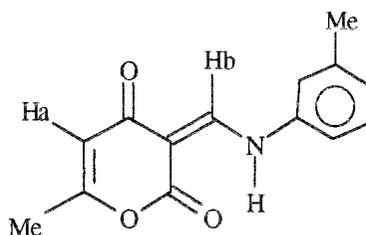
R_f:0,62

RMN ^1H (60 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	3,85	s	3H	OMe
	5,80	s	1H	<u>Ha</u>
	7,05-7,35	m	5H	Ph+ <u>NH</u>
	8,60	s	1H	<u>Hb</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1620	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3200	ν NH

3-N-(3-méthylphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 33

$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NO}_3$
Mr:243,43

Poudre orange claire

F($^{\circ}\text{C}$):165

Rdt:34%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

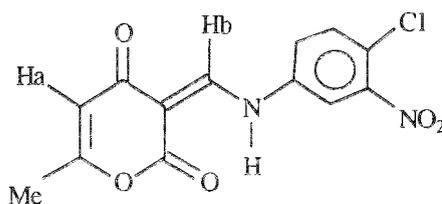
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,63RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	2,25	s	3H	<u>Me</u> Ph
	5,85	s	1H	<u>Ha</u>
	7,15-7,45	m	4H	Ph
	8,80	s	1H	<u>Hb</u>
	9,90-9,95	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1630-1655	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(lactone)
	3250	ν NH

3-N-(3-nitro-4-chlorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 34

$C_{13}H_9ClN_2O_5$
Mr:308,85

Poudre crème

F(°C):>260

Rdt:15%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

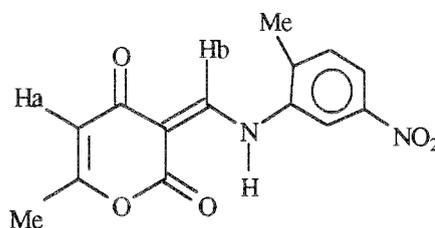
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,7RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
2,10	s	3H	Me	
5,85	s	1H	<u>Ha</u>	
7,75-8,20	m	3H	Ph	
8,65	s	1H	<u>Hb</u>	
12,25-12,35	d	1H	<u>NH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600		ν C=CH
1630-1660		ν C=O(cétone)
1715		ν C=O(lactone)
3100		ν NH

3-N-(2-méthyl-5-nitrophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 35

$C_{14}H_{12}N_2O_5$
Mr:288,45

Cristaux crème

F(°C):254

Rdt:41%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

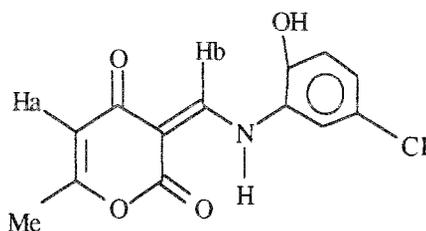
R_f:0,62

RMN ^1H (200 MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	3,15	s	3H	<u>Me</u> Ph
	5,95	s	1H	<u>Ha</u>
	7,05-7,25	m	4H	Ph+ <u>NH</u>
	8,75	s	1H	<u>Hb</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1725	ν C=O(lactone)
	3300	ν NH

3-N-(2-hydroxy-5-chlorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 36

$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}_4$
Mr:279,64

Cristaux jaunes

F($^{\circ}\text{C}$)>260

Rdt:49%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

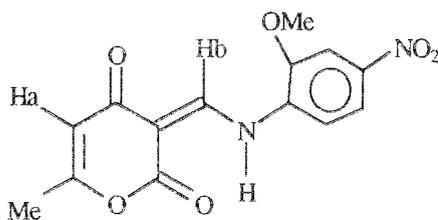
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,71RMN ^1H (200 MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)	2,05	s	3H	Me
	4,75	s	1H	<u>OH</u>
	5,55	s	1H	<u>Ha</u>
	6,25-7,00	m	3H	Ph
	8,80	s	1H	<u>Hb</u>
	10,50-10,65	d	1H	<u>NH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1620-1655	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(lactone)
	2700	ν OH(conjugué)
	3200	ν NH

3-N-(2-méthoxy-4-nitrophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 37

C₁₄H₁₂N₂O₆
Mr:304,42

Poudre marron

F(°C)>260

Rdt:87%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

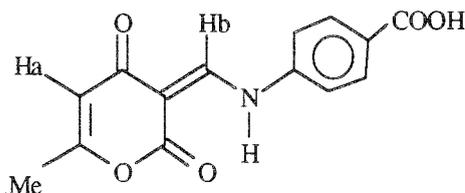
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,65RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,20	s	3H	Me	
4,15	s	3H	OMe	
5,85	s	1H	Ha	
7,55-7,60	d	1H	Ph	
7,80-8,05	m	2H	Ph	
8,65	s	1H	Hb	
13,75-13,85	d	1H	NH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600	ν C=CH	
1630-1670	ν C=O(cétone)	
1715	ν C=O(lactone)	
3250	ν NH	

3-N-(4-hydroxycarbonylphényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 38

C₁₄H₁₁NO₅
Mr:273,41

Poudre crème

F(°C)>260

Rdt:99%

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	2,35	s	3H	Me
	5,85	s	1H	<u>H_a</u>
	7,25-7,80	m	4H	Ph+NH
	8,65	s	1H	<u>H_b</u>
	13,75	s	1H	COOH

CCM:

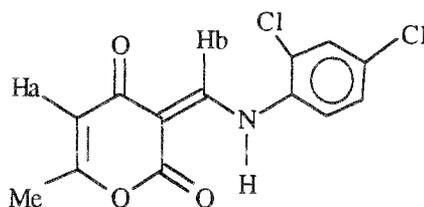
Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,1

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1635-1665	ν C=O(cétone)
	1710	ν C=O(lactone)
	1735	ν C=O(acide)
	3300	ν NH

3-N-(2,4-dichlorophényl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone. 39C₁₃H₉Cl₂NO₃
Mr:298,29

Poudre brune

F(°C)>260

Rdt:82%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

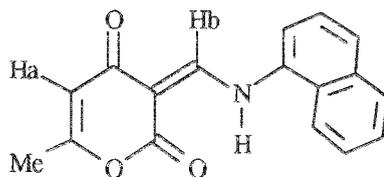
Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,7RMN ¹H (60 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)	2,00	s	3H	Me
	6,15	s	1H	<u>H_a</u>
	7,05-7,30	m	4H	Ph+NH
	8,85	s	1H	<u>H_b</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1605	ν C=CH
	1635-1680	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(lactone)
	3090	ν NH

3-N-(1-naphtyl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone **40**

C₁₇H₁₃NO₃
Mr:279,42

Cristaux jaunes

F(°C):207

Rdt:67%

Solvant de recristallisation : éthanol à 95°-méthanol:1-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther:1-1

R_f:0,75RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,25	s	3H	Me	
5,85	s	1H	H _a	
7,40-8,15	m	8H	Napht.+NH	
8,85	s	1H	H _b	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1620	ν C=O(cétone)
1705	ν C=O(lactone)
3200	ν NH

1.17-Obtention des acides 1-aryl(alcoyl,cycloalcoyl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques VIa-s**1.171-Obtention des acides 1-alcoyl(cycloalcoyl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques** VIa-d au départ de **3-N,N-diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone** **13**

*Méthode générale de synthèse :

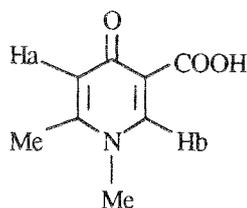
Le protocole opératoire étant identique pour tous les acides VIa-d, nous ne décrivons ici que la méthode d'obtention de l'acide 1,6-diméthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIa

Dans un ballon , surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits 16 mmol de 3-N,N-diméthylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone **13**, 5 ml d'eau et 8 ml d'une solution aqueuse à 40% de l'amine puis le mélange réactionnel est porté à 80°C durant 3h. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré d'environ 30% puis la liqueur résiduelle est neutralisée par addition d'acide acétique.

Par refroidissement, il se forme un précipité qui est ensuite essoré pour obtenir, après recristallisation dans le solvant approprié, l'acide **VI** attendu.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1,6-diméthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIa**



$C_8H_9NO_3$

Mr:167,27

Cristaux blancs

F(°C):232

Rdt:66%

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°.

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1 : R_f : 0,08

éthanol à 95°-éther de pétrole: 2-1 : R_f : 0,17

éthanol à 95° : R_f : 0,27

RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
2,45	s	3H	Me	
3,75	s	3H	Me	
6,60	s	1H	<u>H_a</u>	
8,55	s	1H	<u>H_b</u>	
13,5	s	1H	<u>COOH</u>	

IR (nujol):

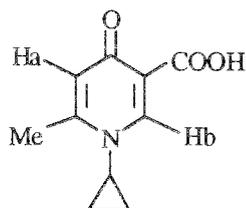
ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1650	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire:C₈H₉NO₃

	C%	H%	N%
Calc.	57.51	5.38	8.38
Tr.	57.55	5.04	8.26

SM(I.E):

m/z	123	94	53	42	56	45	82	108	67	150	168
abondance relative%	100	51.5	45.3	40.7	24.6	18.5	12.3	10.7	10.7	2.6	1.2

Acide 1-cyclopropyl-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIb**

$C_{10}H_{11}NO_3$
Mr: 193,27

Cristaux orange

F(°C): 120

Rdt: 27%

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°-acétone: 1-3

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,22RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

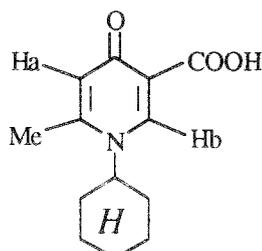
δ (ppm)				
0,80-0,95	d	4H	c.Pr	
2,05	s	3H	Me	
3,22-3,35	m	1H	c.Pr	
5,65	s	1H	<u>Ha</u>	
8,15	s	1H	<u>Hb</u>	
12,55	s	1H	<u>COOH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1625	ν C=CH
1655	ν C=O(cétone)
1705	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: $C_{10}H_{11}NO_3$

	C%	H%	N%
Calc.	62,20	5,69	7,25
Tr.	62,25	5,84	7,08

Acide 1-cyclohexyl-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIc**

$C_{13}H_{17}NO_3$
Mr: 235,45

Cristaux crème

F(°C)>260

Rdt:28%

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°-acétone:2-3.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,75RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

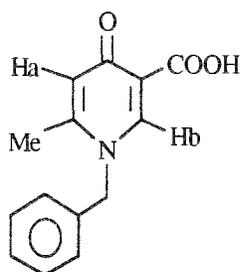
δ (ppm)				
1,12-1,95	m	11H	c.Hex	
2,15	s	3H	Me	
5,75	s	1H	<u>H_a</u>	
8,50	s	1H	<u>H_b</u>	
12,05	s	1H	<u>COOH</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600		ν C=CH
1650		ν C=O(cétone)
1710		ν C=O(acide)

Analyse élémentaire:C₁₃H₁₇NO₃

	C%	H%	N%
Calc.	66.41	7.23	5.95
Tr.	66.38	7.25	5.85

Acide 1-benzyl-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VI_d**C₁₄H₁₃NO₃

Mr:243,27

Cristaux jaunes

F(°C):150

Rdt:39%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,52

RMN ^1H (60 MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)				
2,50	s	3H	Me	
4,75	s	2H	<u>CH</u> ₂ Ph	
5,23	s	1H	<u>H</u> _a	
7,35	s	5H	Ph	
8,55	s	1H	<u>H</u> _b	
13,75	s	1H	<u>COOH</u>	

IR (nujol):	ν (cm $^{-1}$)	
	1630	ν C=CH
	1655	ν C=O(cétone)
	1710	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₄H₁₃NO₃

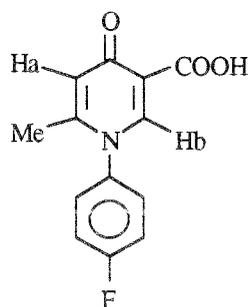
	C%	H%	N%
Calc.	69,16	5,34	5,75
Tr.	69,27	5,49	5,72

1.172-Obtention des acides 1-aryl-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydro-pyridine-3-carboxyliques VIe-s au départ des 3-N-arylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 14-40

*Méthode générale de synthèse:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits 16 mmol de 3-N-arylaminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone 14-40, 30 ml d'éthanol à 95°, 20 ml d'acide chlorhydrique dilué (10% HCl concentré) et 189 mmol de l'amine correspondante puis ce mélange réactionnel est porté à reflux pendant 4 h. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré à moitié de son volume, la liqueur résiduelle est neutralisée à l'aide d'une solution saturée de bicarbonate de potassium et ce mélange est abandonné une nuit à 5°C. L'essorage et la recristallisation du précipité formé, dans l'éthanol à 95°, donne naissance à l'acide VI attendu.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIe

C₁₃H₁₀FNO₃
Mr:247,27

Cristaux blancs

F(°C):224-226

Rdt:60%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,42RMN ¹H (60 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	2,00	s	3H	Me
	6,75	s	1H	<u>H_a</u>
	7,10-7,75	m	4H	Ph
	8,35	s	1H	<u>H_b</u>
	16,70	s	1H	<u>COOH</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1725	ν C=O(acide)

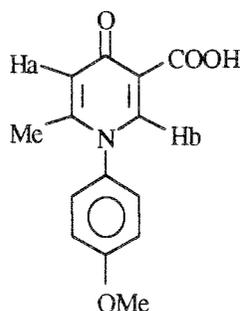
SM(IE):

m/z	203	188	95	53	75	67	107	122	146	162	57
Abondance relative%	100	51	34	31	16	12	6	6	6	6	5

m/z	172	230	248
Abondance relative%	4	3.0	2

Analyse élémentaire: C₁₃H₁₀FNO₃

	C%	H%	N%	F%
Calc.	63.18	4.04	5.65	7.68
Tr.	63.22	3.75	5.66	7.61

Acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VI_fC₁₄H₁₃NO₄
Mr:259,43

Cristaux blancs

F(°C):150-156

Rdt:54%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,37

RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)	2,10	s	3H	Me
	3,75	s	3H	OMe
	6,70	s	1H	Ha
	6,90-7,15	d	2H	Ph
	7,32-7,55	d	2H	Ph
	8,25	s	1H	Hb

IR (nujol):

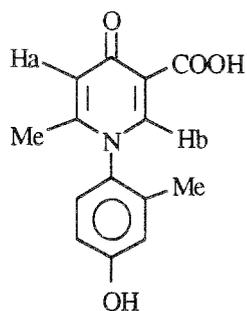
ν (cm ⁻¹)	1615	ν C=CH
	1645	ν C=O(cétone)
	1730	ν C=O(acide)

SM(I.E.):

m/z	215	200	53	184	77	92	63	260	132	51	102
abondance relative%	100	44,3	37	32,8	30,5	25,9	19	13,7	12,9	12,2	10,9

m/z	172	142	42	154	242
abondance relative%	9,92	7,6	7,6	5,34	3,8

Acide 1-(2-méthyl-4-hydroxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIg



C₁₄H₁₃NO₄
Mr:259,42

Poudre crème

F(°C):172

Rdt:63%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)Eluant: acétone-éther: 1-1 : R_f : 0,35éthanol à 95° : R_f:0,37

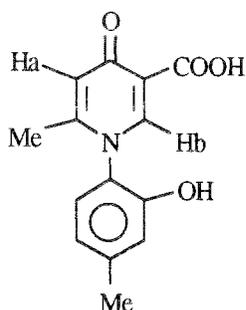
RMN ^1H (200 MHz/ CF_3COOD):

δ (ppm)	2,05	s	3H	Me
	2,45	s	3H	<u>Me</u> Ph
	6,90-7,00	m	2H	Ph
	7,10-7,25	m	1H	Ph
	7,45	s	1H	<u>Ha</u>
	8,95	s	1H	<u>Hb</u>
	9,05	s	1H	<u>OH</u>
	13,05	s	1H	<u>COOH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1605	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1725	ν C=O(acide)
	3350	ν OH

Acide 1-(4-méthyl-2-hydroxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIh**



$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_4$
Mr:259,42

Poudre beige

F($^{\circ}\text{C}$):248

Rdt:53%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

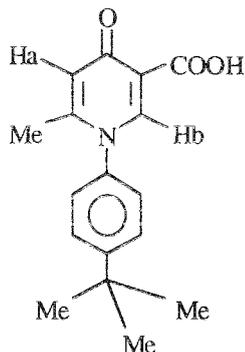
Eluant: acétone-éther: 1-1.

R_f:0,45RMN ^1H (200 MHz/ $\text{DMSO}-d_6$):

δ (ppm)	2,05	s	3H	Me
	2,33	s	3H	<u>Me</u> Ph
	6,65	s	1H	<u>Ha</u>
	7,10-7,15	d	1H	Ph
	8,05-8,15	m	2H	Ph
	8,35	s	1H	<u>Hb</u>
	10,05	s	1H	<u>COOH</u>

IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1610	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1710	ν C=O(acide)
	3200	ν OH

Acide 1-(4-t-butylphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIi

C₁₇H₁₉NO₃
Mr:285,56

Cristaux crème

F(°C):218

Rdt:57%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1.

R_f : 0,5RMN ¹H (60 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
1,05	s	9H	t.Bu	
2,15	s	3H	Me	
6,93-7,45	m	5H	Ph+ <u>H_a</u>	
8,65	s	1H	<u>H_b</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1730	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₇H₁₉NO₃

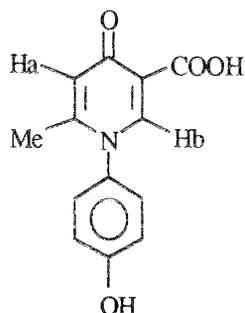
	C%	H%	N%
Calc.	71,60	6,66	4,90
Tr.	71,68	6,72	4,77

SM(I.E):

m/z	241	184	226	115	41	91	99	77	53	128	286	67
Abondance relative%	100	49,2	35,1	30,7	25,3	24,6	20	20	17,7	17,7	13,8	10,7

m/z	77	210	154	268
Abondance relative%	9,9	8,5	3	2,3

Acide 1-(4-hydroxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIj



$C_{13}H_{11}NO_4$
Mr:245,12

Poudre beige

F(°C)>260

Rdt:38%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1.

Rf:0,4

RMN 1H (200 MHz/DMSO- d_6):

δ (ppm)				
2,15	s	3H	Me	
3,25	s	1H	OH	
6,83-7,40	m	4H	Ph	
8,40	s	1H	<u>Ha</u>	
10,05	s	1H	<u>Hb</u>	
12,85	s	1H	COOH	

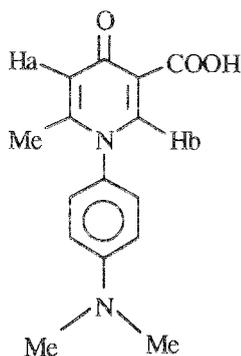
IR (nujol):

ν (cm $^{-1}$)	
1600	ν C=CH
1640-1650	ν C=O(cétone)
1710	ν C=O(acide)
3400	ν OH

Analyse élémentaire: $C_{13}H_{11}NO_4$

	C%	H%	N%
Calc.	63,70	4,48	5,71
Tr.	63,39	4,50	5,64

Acide 1-(4-*N,N*-diméthylaminophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIk**



C₁₅H₁₆N₂O₃
Mr: 272,47

Poudre bleuâtre

F(°C): 250

Rdt: 48%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther : 1-1.

R_f : 0,52

RMN ¹H (200 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
2,45	s	3H	Me	
3,60	s	6H	NMe ₂	
7,45	s	1H	<u>Ha</u>	
7,80-7,92	d	2H	Ph	
8,00-8,10	d	2H	Ph	
9,05	s	1H	<u>Hb</u>	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1615	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₅H₁₆N₂O₃

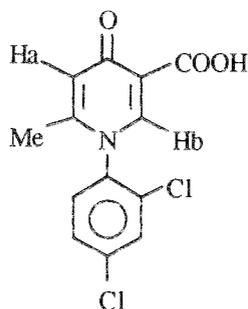
	C%	H%	N%
Calc.	66,20	5,87	10,28
Tr.	65,38	5,89	10,13

SM(I.E):

m/z	228	184	272	213	159	77	53	145	42	200	154
Abondance relative%	100	69,4	38,9	34,3	16	14,5	13,7	10,6	9,96	9,16	8,4

m/z	104	91	135	63	170	255
Abondance relative%	7,6	7,6	6,8	6,1	4,5	1,0

Acide 1-(2,4-dichlorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIj**



$C_{13}H_9Cl_2NO_3$
Mr:298,25

Poudre jaune

F(°C):240

Rdt:23%

CCM:

Support: gel de silice 60 F254 (feuille de plastique)
Eluant: acétone-éther: 1-1
Rf:0,52

RMN 1H (60 MHz/ CF_3COOD):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
6,15	s	1H	<u>Ha</u>	
7,30-7,55	m	4H	Ph+ <u>COOH</u>	
8,85	s	1H	<u>Hb</u>	

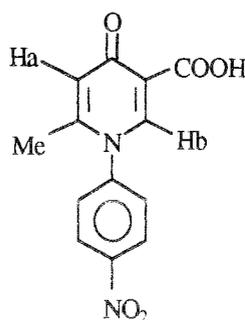
IR (nujol):

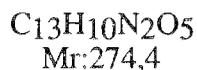
ν (cm^{-1})	
1615	ν C=CH
1630	ν C=O(cétone)
1710	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: $C_{13}H_9Cl_2NO_3$

	C%	H%	N%	Cl
Calc.	52,39	3,02	4,69	23,79
Tr.	52,65	3,06	5,18	ND

Acide 1-(4-nitrophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIIm**





Poudre brune F(°C):241 Rdt:20%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant : éthanol à 95°.

R_f : 0,2

RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
6,24	s	1H	<u>H</u> _a	
7,86-7,95	m	4H	Ph	
8,44	s	1H	<u>H</u> _b	

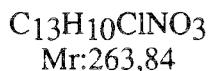
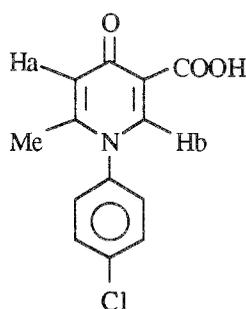
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1650	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₃H₁₀N₂O₅

	C%	H%	N%
Calc.	56.96	3.64	10.21
Tr.	55.84	4.95	11.34

Acide 1-(4-chlorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VI_n**



Cristaux jaunes F(°C):250 Rdt:49%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,66

RMN ^1H (60 MHz/ CF_3COOD):

δ (ppm)	2,40	s	3H	Me
	6,24	s	1H	$\underline{\text{H}}_a$
	7,16-7,29	m	4H	Ph
	8,85	s	1H	$\underline{\text{H}}_b$

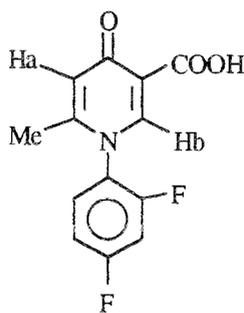
IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1605	ν C=CH
	1660	ν C=O(cétone)
	1715	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}_3$

	C%	H%	N%	Cl
Calc.	59,24	3,79	5,31	13,45
Tr.	59,25	3,79	5,18	13,05

Acide 1-(2,4-difluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **VIo**



$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{F}_2\text{NO}_3$
Mr:265,38

Cristaux blancs

F($^{\circ}\text{C}$): 180

Rdt:50%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther : 1-1

R_f : 0,51RMN ^1H (200 MHz/ CDCl_3):

δ (ppm)	2,15	s	3H	Me
	6,60	s	1H	$\underline{\text{H}}_a$
	7,04-7,55	m	3H	Ph
	8,35	s	1H	$\underline{\text{H}}_b$
	13,15	s	1H	$\underline{\text{COOH}}$

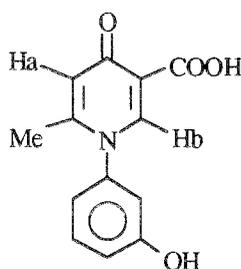
IR (nujol):

ν (cm^{-1})	1600	ν C=CH
	1640	ν C=O(cétone)
	1725	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₃H₉F₂NO₃

	C%	H%	N%	F
Calc.	58,90	3,39	5,28	14,32
Tr.	58,82	3,44	5,39	14,25

Acide 1-(3-hydroxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. **Vlp**



C₁₃H₁₁NO₄
Mr:245,4

Poudre beige

F(°C)>260

Rdt:49%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,17RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
6,55-7,35	m	5H	Ph+H _a	
8,23	s	1H	H _b	
10,04	s	1H	OH	
13,52	s	1H	COOH	

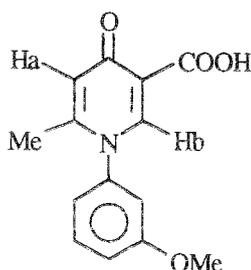
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1600	ν C=CH	
1670	ν C=O(cétone)	
1710	ν C=O(acide)	
3200	ν OH	

Analyse élémentaire: C₁₃H₁₁NO₄

	C%	H%	N%
Calc.	63,70	4,48	5,71
Tr.	63,28	4,55	5,63

Acide 1-(3-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VI_q



C₁₄H₁₃NO₄
Mr:259,42

Poudre blanche

F(°C):180

Rdt:57%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1.

R_f:0,5

RMN ¹H (60 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
2,05	s	3H	Me	
3,44	s	3H	MeO	
6,45-7,20	m	5H	Ph+H _a	
8,45	s	1H	H _b	
12,25	s	1H	COOH	

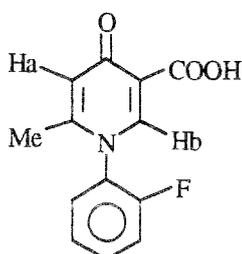
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)		
1610		ν C=CH
1650		ν C=O(cétone)
1720		ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₄H₁₃NO₄

	C%	H%	N%
Calc.	64,89	5,01	5,40
Tr.	64,89	4,97	5,27

Acide 1-(2-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VI_r



C₁₃H₁₀FNO₃
Mr:247,27

Cristaux blancs F(°C):180 Rdt:53%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther : 1-1

R_f : 0,35

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
2,10	s	3H	Me	
6,65	s	1H	<u>H</u> _a	
7,22-7,63	m	4H	Ph	
8,45	s	1H	<u>H</u> _b	
13,01	s	1H	COOH	

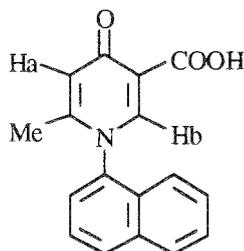
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1605	ν C=CH
1635	ν C=O(cétone)
1720	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₃H₁₀FNO₃

	C%	H%	N%	F
Calc.	63.18	4.04	5.58	7.68
Tr.	62.89	4.02	5.58	ND

Acide 1-(α-naphtyl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VI_s



C₁₇H₁₃NO₃
Mr:279

Poudre blanche

F(°C):246

Rdt:29%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther : 1-1

R_f : 0,65

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	2,12	s	3H	Me
	6,65	s	1H	<u>H_a</u>
	7,24-8,15	m	7H	Napht.
	8,65	s	1H	<u>H_b</u>
	15,60	s	1H	COOH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1730	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₇H₁₃NO₃

	C%	H%	N%
Calc.	73.14	4.65	5.01
Tr.	73.15	4.68	5.06

**1.18-Obtention des 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6-méthyl-
1,4-dihydropyridine-3-carboxylates d'éthyle VII_{a-d}
et d'éthoxycarbonylméthyle VII_e**

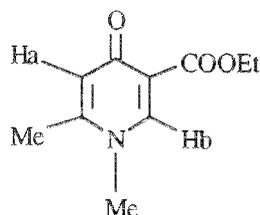
**1.18.1-Obtention des 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6-méthyl-
1,4-dihydropyridine-3-carboxylates d'éthyle VII_{a-c}**

*Méthode générale de synthèse:

Dans un ballon, équipé d'un appareil de Dean et Stark, sont introduits 89 mmol de l'acide VI correspondant, 30 ml d'éthanol absolu, 3,3 ml d'acide sulfurique concentré et 50 ml de benzène puis le mélange réactionnel est porté à reflux. Compte-tenu de la difficulté d'apprécier la quantité d'eau formée qui forme une émulsion avec le benzène (des fractions de solvant sont régulièrement recueillies, séchées sur carbonate de potassium puis réintroduites dans le milieu réactionnel). Cette opération est répétée plusieurs fois pendant 8 h. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par addition d'une solution d'hydroxyde de potassium (2 N) et les solvants sont éliminés sous vide. Le résidu est extrait par du chloroforme (3 fois 50 ml), la phase organique est lavée à l'aide d'une solution saturée de NaCl et séchée sur sulfate de magnésium. L'évaporation du chloroforme sous vide fournit un produit solide qui est purifié (flash chromatographie ou recristallisation) pour donner naissance à l'ester attendu.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

(Structures et caractéristiques de VII_{a-c} :cf. pages suivantes)

1,6-diméthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthyle **VIIa**

C₁₀H₁₃NO₃
Mr: 195,27

Cristaux blancs

F(°C): 60-65

Rdt: 23%

Solvant de recristallisation: acétone-éther: 2-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éthanol à 95°.

R_f: 0,22RMN ¹H (60 MHz/CDCl₃):

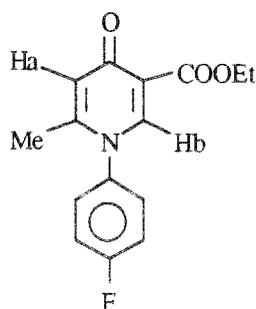
δ (ppm)				
1,20-1,45	t	3H	OCH ₂ Me	
2,25	s	3H	Me	
3,65	s	3H	Me	
4,10-4,45	q	2H	OCH ₂ Me	
6,20	s	1H	H _a	
8,10	s	1H	H _b	

IR (Nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1610	ν C=CH
1645	ν C=O(cétone)
1735	ν C=O(ester)

SM(I.E):

m/z	123	122	188	53	42	150	151	56	67	94	195	108	82
Abondance relative%	100	23	21	20	18	15,5	13	12	7	6	4	1,5	1,1

1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthyle **VIIb**

C₁₅H₁₄FNO₃
Mr:275,27

Cristaux roses

F(°C):150

Rdt:27%

Purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : acétone).

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)Eluant: éthanol à 95°: R_f : 0,57acétone-éther: 1-1 : R_f:0,175RMN ¹H (60 MHz/acétone-*d*₆):

δ (ppm)	0,65-0,95	t	3H	OCH ₂ Me
	2,50	s	3H	Me
	3,50-3,95	q	2H	OCH ₂ Me
	5,70	s	1H	H _a
	6,80-7,30	m	4H	Ph
	7,55	s	1H	H _b

IR (nujol):

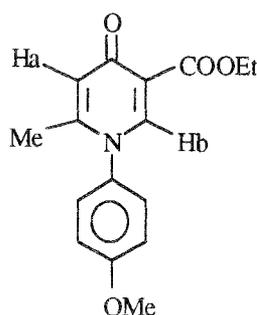
ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1655	ν C=O(cétone)
	1730	ν C=O(ester)

SM(I.E):

m/z	203	95	188	127	53	230	79	156	67	133	122
Abondance relative%	100	44,6	38,5	29,2	24,6	22,3	20	20	15,3	13,8	13,8

m/z	108	43	276	172	146	162	246	184
Abondance relative%	11,5	11,5	10	6,6	6,1	3,8	2,3	1,0

1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate
d'éthyle **VIIc**



C₁₆H₁₇NO₄
Mr:287,43

Poudre blanche

F(°C):235

Rdt:50%

Purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant: acétone-éther-éther de pétrole:1-1-1).

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éthanol à 95°

R_f:0,62RMN ¹H (200 MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
1,15-1,22	t	3H	OCH ₂ Me	
1,85	s	3H	Me	
2,45	s	3H	OMe	
4,05-4,52	q	2H	OCH ₂ Me	
6,25	s	1H	H _a	
6,85-7,25	m	4H	Ph	
8,05	s	1H	H _b	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1610	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1735	ν C=O(ester)

SM(I.E):

m/z	201	184	215	229	53	79	65	43	93	242	256
Abondance relative%	100	45,8	42,7	35,8	26,7	19,0	19,0	16,0	11,5	11,4	7,6

m/z	102	134	115	170	273	143	287	154	278	174
Abondance relative%	6,2	6,1	6,1	4,5	3,8	3,5	3,0	3,0	3,0	1,0

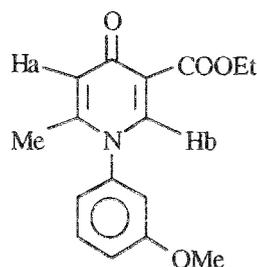
1.18.2-Synthèse du 1-(3-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthyle VII_d

*Méthode de synthèse:

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits successivement 3,8 mmol (1 g) d'acide VI_q, 20 ml de diméthylformamide, 7,6 mmol (1,2 g) d'iodure d'éthyle et 7,9 mmol (1,1 g) de carbonate de potassium qui sont portés à reflux pendant 21 h. Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé sous vide et le résidu est extrait à l'aide de dichlorométhane (3 fois 50 ml), la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée sous vide. Le produit solide obtenu est recristallisé dans le mélange acétone-éther-éther de pétrole (1-1-1) pour donner naissance à 0,45 g (Rdt:41%) de VII_d, sous forme de cristaux roses.(F:130°C)

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.
(Structure et caractéristiques de VII_d : cf. p.197)

1-(3-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthyle VII_d



C₁₆H₁₇NO₄
Mr:287,43

Cristaux roses

F(°C):130

Rdt:41%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant:acétone-éther : 1-1.

R_f : 0,25

RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)				
1,20-1,25	t	3H	OCH ₂ Me	
2,00	s	3H	Me	
3,85	s	3H	OMe	
4,20-4,25	q	2H	OCH ₂ Me	
6,40	s	1H	H _a	
6,45-7,20	m	4H	Ph	
7,40	s	1H	H _b	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1640	ν C=O(cétone)
1740	ν C=O(ester)

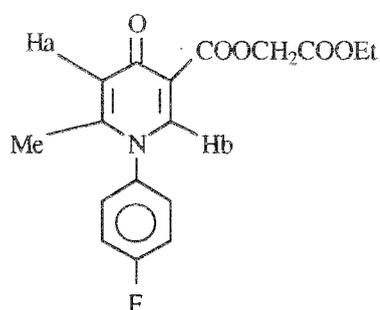
1.18.3-Synthèse du 1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthoxycarbonylméthyle VII_e

*Méthode de synthèse:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits successivement 4 mmol (1 g) d'acide **VI_e**, 50 ml de diméthylformamide, 8 mmol (1 g) de monochloroacétate d'éthyle et 1,23 mmol (1,7 g) de carbonate de potassium puis chauffés à 100-110°C pendant 6 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le solvant est évaporé sous vide, le résidu est extrait dans du chloroforme (3fois 50 ml), la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est concentré sous vide pour obtenir un produit solide (1,15 g) . Ce produit est lavé à l'éther chaud puis essoré pour obtenir 0,5 g (Rdt:37%) de l'ester attendu, se présentant sous forme d'une poudre beige (F:121°C)

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate d'éthoxycarbonylméthyle VIIe



C₁₇H₁₆FNO₅
Mr:333,32

Poudre beige

F(°C):121

Rdt:37%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1 : R_f:0,1

éthanol à 95° : R_f : 0,57

RMN ¹H (200MHz/acétone-d₆):

δ (ppm)				
1,15-1,25	t	3H	OCH ₂ Me	
2,85	s	3H	Me	
4,15-4,25	q	2H	OCH ₂ Me	
4,65	s	2H	CH ₂	
6,25	s	1H	H _a	
7,40-7,65	m	4H	Ph	
8,25	s	1H	H _b	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	
1600	ν C=CH
1650	ν C=O(cétone)
1740	ν C=O(ester)
1770	ν C=O(ester)

SM(I.E):

m/z	230	203	95	188	53	57	136	122	333	75	288	146
Abondance relative%	100	97.6	34.6	19.2	19.2	18.5	15.3	15.3	11.5	10.7	9.2	7.6

m/z	107	248	184	162
Abondance relative%	7.6	5.3	3.5	3.2

1.19-Obtention des acides 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-
6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydro-
pyridine-3-carboxyliques VIIIa-e

*Méthode de synthèse:

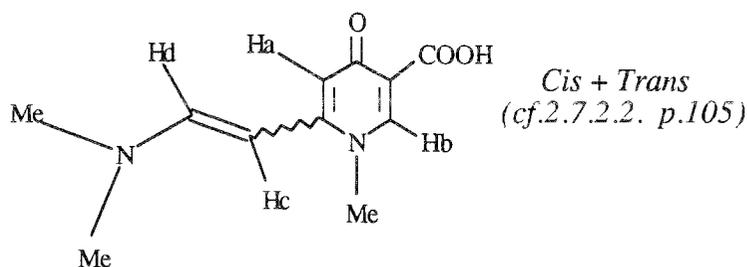
La méthode d'obtention des composés VIIIa-e étant identique, nous ne décrivons ci-dessous que le protocole relatif à l'acide-1-méthyl-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIIIa

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits 5,97 mmol (1 g) d'acide VIa, 20 ml de diméthylformamide et de 7,3 mmol (0,88 g) de 1,1-diméthoxytriméthylamine, le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 50 h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est essoré puis lavé à l'éther. La recristallisation dans un solvant approprié donne 0,7 g (Rdt:53%) de produit VIIIa sous forme de cristaux beiges. (F>260°C).

Les dérivés VIIIa-e obtenus sont des mélanges de 2 stéréoisomères cis et trans les plus thermodynamiquement favorisés (cf.2.7.2.2. p.105).

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1-méthyl-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique. VIIIa



C₁₁H₁₄N₂O₃
Mr:222,43

Cristaux beiges

F(°C)>260

Rdt:53%

Solvant de recristallisation:éthanol à 95°-acétone:1-1.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

Rf:0,12

RMN ¹H (60 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
3,45	s	6H	<u>NMe₂</u>	
3,95	s	3H	Me	
6,60	dd	1H	<u>H_a</u>	
8,20-8,25	dd	2H	<u>H_c+H_d</u>	
8,75	s	1H	<u>H_b</u>	
13,10	s	1H	COOH	

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1670	ν C=O(cétone)
	1705	ν C=O(acide)

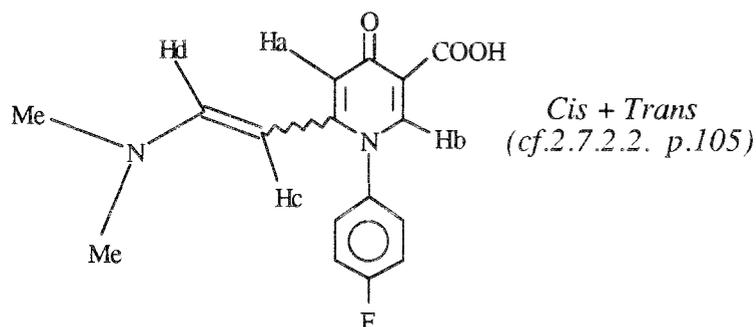
Analyse élémentaire: C₁₁H₁₄NO₃

	C%	H%	N%
Calc.	59.39	6.29	12.58
Tr.	59.01	6.33	12.52

SM(I.E.):

m/z	178	52	42	134	79	222	94	123	163	108	149	120	82
Abondance relative%	100	97	71	47	45	29	29	16	10	10	6	3,5	2,9

Acide 1-(4-fluorophényl)-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VIIIb**



C₁₆H₁₅FN₂O₃
Mr:302,43

Cristaux beiges

F(°C)>260

Rdt:49%

Solvant de recristallisation: éthanol à 95°.

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,45RMN ¹H (200 MHz/DMSO-d₆):

δ (ppm)	3,05	s	6H	<u>NMe₂</u>
	4,00-4,15	d	1H	<u>H_d</u>
	6,85	dd	1H	<u>H_a</u>
	7,25-7,40	m	5H	Ph+ <u>H_c</u>
	8,10	s	1H	<u>H_b</u>
	13,55	s	1H	<u>COOH</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1590	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₁₆H₁₅FN₂O₃

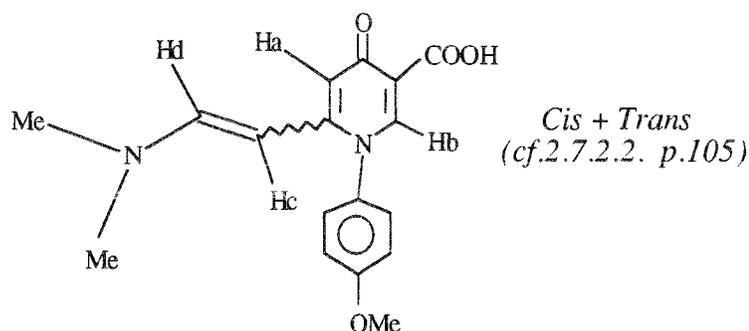
	C%	H%	N%	F
Calc.	63,60	4,96	9,26	6,28
Tr.	63,17	4,97	9,31	5,64

SM(I.E):

m/z	258	94	42	108	302	75	214	53	122	81	135	241
Abondance relative%	100	47,1	38,7	16,7	15,9	12,9	12,1	12,1	10,6	10,6	9,1	8,3

m/z	186	148	162
Abondance relative%	7,6	5,3	5,3

Acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-1(2-N,N-diméthylamino)vinyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIIIc



C₁₇H₁₈N₂O₄
Mr:314,59

Poudre crème

F(°C)>260

Rdt:33%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f:0,2RMN ¹H (200 MHz/CF₃COOD):

δ (ppm)				
3,00-3,55	m	9H	OMe+NMe ₂	
6,05-6,15	d	1H	H _d	
6,75-6,88	m	4H	Ph	
7,25	dd	1H	H _a	
8,12-8,20	d	1H	H _c	
8,61	s	1H	H _b	
12,55	s	1H	COOH	

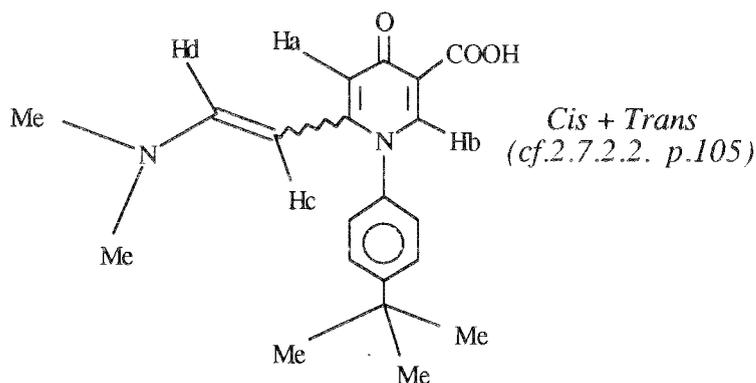
IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1690	ν C=O(cétone)
	1720	ν C=O(acide)

SM(IE):

m/z	270	94	42	314	77	108	253	53	239	226	122	174
Abondance relative%	100	30	24,6	15,3	10,7	10	10	9,2	8,4	8,4	3,7	2,0

Acide 1-(4-t.butylphényl)-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VIII_d**



C₂₀H₂₄N₂O₃
Mr:340,67

Poudre crème

F(°C)>260

Rdt:58%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,1RMN ¹H (200 MHz/DMSO-d₆):

δ (ppm)	1,44	s	9H	t.Bu
	2,15	s	6H	NMe ₂
	2,85-3,00	dd	2H	<u>H_c</u> + <u>H_d</u>
	6,40	dd	1H	<u>H_a</u>
	7,20-7,55	m	4H	Ph
	8,25	s	1H	<u>H_b</u>
	12,95	s	1H	<u>COOH</u>

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1610	ν C=CH
	1660	ν C=O(cétone)
	1710	ν C=O(acide)

Analyse élémentaire: C₂₀H₂₄N₂O₃

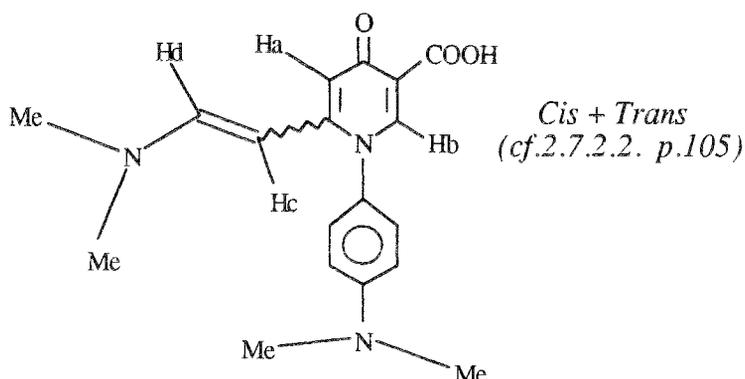
	C%	H%	N%
Calc.	70.61	7.05	8.23
Tr.	70.76	7.20	7.50

SM(I.E):

m/z	296	241	94	115	42	184	340	57	226	279	91	268
Abondance relative%	100	38,9	24,4	16	15,3	15,3	10,7	9,9	9,9	9,2	9,2	6,1

m/z	252	128	158	144	67	53	163	122
Abondance relative%	6,1	4,9	4,6	4,5	3,8	3,2	1,9	1,0

Acide 1-(4-N,N-diméthylaminophényl)-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VIIIe**



C₁₈H₂₁N₃O₃
Mr:327,63

Poudre brune

F(°C):180

Rdt:50%

Purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant: acétone-éther : 1-1).

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: acétone-éther: 1-1

R_f : 0,22RMN ¹H (200 MHz/CDCl₃):

δ (ppm)	2,55	s	6H	NMe ₂
	2,70-2,85	dd	2H	H _c +H _d
	3,05	s	6H	NMe ₂
	6,44	dd	1H	H _a
	6,80-7,15	m	4H	Ph
	8,25	s	1H	H _b
	11,05	s	1H	COOH

IR (nujol):

ν (cm ⁻¹)	1605	ν C=CH
	1660	ν C=O(cétone)
	1700	ν C=O(acide)

SM(I.E):

m/z	286	228	184	42	114	213	105	77	255	91	94	127	145
Abondance relative%	100	99,2	53,4	41,2	38,1	35,1	31,2	25,2	25,2	20	18,3	16,8	16,8

m/z	199	239	122	163	327
Abondance relative%	14,5	7,6	5,4	1,9	1,0

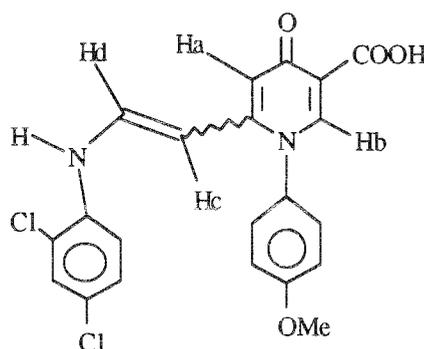
1.20-Synthèse de l'acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-[2-N-(2,4-dichlorophényl)aminovinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIII_f

*Méthode de synthèse:

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant ascendant, sont introduits 0,95 mmol (300 mg) d'acide-1-(4-méthoxyphényl)-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIII_c, 0,95 mmol (154 mg) de 2,4-dichloroaniline, 1 ml d'acide acétique glacial dans 10 ml de dichlorométhane puis le mélange réactionnel est porté à reflux durant 48 h. Après retour à température ambiante, 100 ml de dichlorométhane sont ajouté pour effectuer la décantation à l'aide d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis à l'eau distillée. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, concentrée sous vide et chromatographiée sur colonne de silice avec comme éluants successifs : éther-éther de pétrole (1-1) puis acétone-éther (1-1) pour fournir 0,12 g (Rdt:29%) du produit attendu.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-[(2-N-(2,4-dichlorophényl)amino]vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique VIII_f



Cis + Trans
(cf.2.7.2.2. p.105)

C₂₁H₁₆Cl₂N₂O₄
Mr:431,61

Poudre beige

F(°C)>260

Rdt:29%

CCM:

Support: gel de silice 60 F₂₅₄ (feuille de plastique)

Eluant: éthanol à 95°

R_f : 0,8

RMN ¹H (200MHz/DMSO-*d*₆):

δ (ppm)				
0,95	s	1H	NH	
1,20	s	3H	Me	
3,85-3,95	dd	2H	H _c +H _d	
5,60	dd	1H	H _a	
7,00-7,45	m	7H	2Ph	
8,10	s	1H	H _b	

IR (Nujol):

ν (cm ⁻¹)	1600	ν C=CH
	1650	ν C=O(cétone)
	1680	ν C=O(acide)
	3300	ν NH

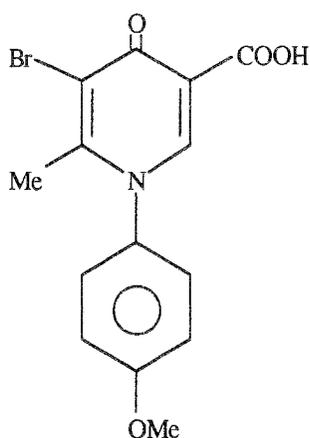
1.21-Synthèse de l'acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-5-bromo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxilique 41

*Méthode de synthèse:

Une suspension de 3,85 mmol (1 g) d'acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VI**, 9,55 mmol (1,2 g) de N-bromosuccinimide et une pointe de spatule de peroxyde de benzoyle, dans 50 ml de chloroforme, est portée à reflux, sous irradiation d'une lampe à incandescence, durant 12 h. Après retour du mélange réactionnel à température ambiante, le liquide est filtré puis le solvant est évaporé sous vide. La recristallisation du résidu, dans le chloroforme, donne 0,5 g (Rdt:39%) du produit attendu sous forme de cristaux blancs.

*Caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques.

Acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-5-bromo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxilique. **41**



C₁₄H₁₂BrNO₄
Mr:338,33

Cristaux blancs

F(°C):256,5

Rdt:39%

RMN ¹H (400MHz/DMSO-d₆):

δ (ppm)	2,39	s	3H	Me
	3,90	s	3H	OMe
	7,18-7,20	d	2H	Ph
	7,60-7,62	d	2H	Ph
	8,48	s	1H	H _b
	11,08	s	1H	COOH

IR (Nujol):

 ν (cm⁻¹)

1610

 ν C=CH

1645

 ν C=O(cétone)

1755

 ν C=O(acide)

SM(I.E.):

m/z	295	293	214	77	264	92	278	67	53	107	199	132	249
Abondance relative%	100	99.9	30	25.7	24.5	22.9	18.3	17.4	16.6	10.7	5.3	4.6	3.8

m/z	338	320	184
Abondance relative%	3	2.3	2.3

2-ACTIVITE BIOLOGIQUE

2.1-Introduction

La détermination des propriétés biologiques des molécules synthétisées au cours de notre recherche a concerné deux activités très complémentaires l'une de l'autre :

-L'activité inhibitrice à l'égard de l'ADN gyrase, c'est-à-dire la capacité d'un produit à inhiber l'activité enzymatique de l'ADN gyrase isolée, en utilisant le modèle *in vitro* développé par N. Moreau et coll. (76). A cet effet, nous avons déterminé les concentrations inhibitrices (CI₁₀₀, CI₀), de nos produits à l'égard de l'activité ADN gyrase.

-L'activité antibactérienne qui traduit la capacité d'un produit à détruire les bactéries. A cet effet, nous avons évalué le pouvoir antibiotique en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).

2.2-Inhibition de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase*

2.2.1-Méthodologie

2.2.1.1-Principe

L'appréciation du pouvoir inhibiteur de l'activité enzymatique d'ADN gyrase est fondée sur le principe suivant : le produit inhibiteur de l'ADN gyrase est celui qui empêche, à la concentration la plus faible, le surenroulement d'un ADN plasmidique relâché par action de l'enzyme (ADN gyrase). Des concentrations données du produit testé et d'ADN relâché sont incubées avec l'enzyme (ADN gyrase) pendant 30 min. à 37 °C et l'évolution de la réaction est suivie par électrophorèse.

2.2.1.2-Préparation des réactifs

Pour cette étude, nous avons dû préparer l'ADN gyrase et l'ADN relâché.

2.2.1.21-Préparation de l'ADN gyrase

La purification de la gyrase de *E. coli* a été effectuée par la méthode décrite par Staudenbauer (113) et développée au laboratoire de N. Moreau (travaux non publiés). Le protocole opératoire nécessite quatre étapes décrites ci-après :

2.2.1.211-Extraction de l'ADN gyrase

Lyse des bactéries: La lyse des bactéries est effectuée par la méthode au lysosyme de la façon suivante: 41 g de bactéries *Escherichia coli* HR 560, décongelées à 4°C, sont homogénéisées dans 80 ml du tampon de lyse A (Tris: 100 mM; 20% sucrose; pH=7,6).

* Cette partie de notre expérimentation biologique a été réalisée au Laboratoire de Mme N. Moreau (C.E.R.C.O.A) que nous remercions pour son accueil et ses précieux conseils.

A partir de solutions concentrées, nous ajoutons de l'EDTA* (20 mM), du DTT* (1 mM) et du PMSF* (0,5 mM). Après 10 min., 16 mg de lysosyme (pour 40 g de bactéries), BRIJ* (0,1%), MgCl₂ (5 mM) et KCl (750 mM) sont ajoutés. Le volume final de lyse est de 105 ml. La solution est soumise 24 h. à une température de -80°C pour parachever la lyse.

Après décongélation, la solution est ultracentrifugée 2 h. à 34 M rpm.

Extraction protéique: Les centrifugations sont prolongées durant 20 min. à 12 M rpm.

On effectue sur le surnageant (104 ml) deux précipitations successives au sulfate d'ammonium (sous agitation lente pendant 1 h.) à des saturations de 35% puis 45%.

Après centrifugation, les culots sont repris dans le tampon B (HEPES: 25 mM; EDTA: 1 mM; PMSF: 0,5 mM; MgCl₂: 5 mM; pH=8,0) et dialysés 24 h. contre ce tampon. Une nouvelle dialyse de 4 h. est réalisée contre 2 fois 1 litre de ce même tampon.

2.2.1.212-Purification par chromatographie

♦ *Colonne Héparine-sépharose*: Volume de la colonne=40 ml.

La colonne est équilibrée par le tampon B + 10% d'éthylène glycol (EG) et KCl: 50 mM. Le dialysat est chargé sur la colonne. La colonne est lavée par le tampon C (HEPES: 25 mM; EDTA*: 1 mM; DTT: 1 mM; MgCl₂: 5 mM; pH=8,0). L'élution (débit=34 ml/h.) s'opère en présence de 100 ml d'un gradient de KCl (0,05 M - 0,8 M) dans du tampon C +10% d'EG.

L'ADN gyrase est éluée entre 0,3 et 0,5 M de KCl.

Les fractions recueillies (30 ml) sont dialysées 24 h contre 300 ml de tampon B + 10% d'EG et 0,15 M de KCl.

♦ *Colonne Novobiocine-sépharose*: Volume de la colonne = 10 ml.

Cette chromatographie d'affinité est réalisée de la façon suivante :

Après lavage de la colonne par le tampon C + 10% d'EG et KCl: 0,2 M, le dialysat est chargé sur la colonne. Celle-ci est alors lavée par le tampon C + 10% d'EG et KCl: 0,2 M puis par le tampon C + 10% d'EG + ATP: 20 mM + MgCl₂: 20 mM. Après rinçage par le tampon C + 10% d'EG et KCl: 0,2 M, l'ADN gyrase est éluée par le tampon C + 10% d'EG et Urée: 5 M.

* *note de bas de page*: EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique ; DTT : Dithiothréitol ; PMSF : Fluorure d'o.toluènesulfonyle ; BRIJ : Ether de polyéthylène; HEPES : Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazineéthane sulfonique.

Les fractions correspondant au pic urée (8 ml) sont dialysées contre 200 ml de tampon D (Tris: 20 mM; KCl: 5 mM; EDTA: 1 mM; MgCl₂: 5 mM; pH=7,4).

2.2.1.213-Concentration des fractions dialysées

Le boudin de dialyse est placé sur du polyéthylène glycol 600 (PEG) puis redialysé contre le tampon D + 50% de Glycérol.

Le dialysat est aliquoté puis conservé à une température de -80°C.

2.2.1.214-Caractérisation de la protéine ADN gyrase

Elle est effectuée par électrophorèse sur gel d'acrylamide par la méthode dénaturante SDS -PAGE sur cuve à électrophorèse Mini-Protean II (BioRad).

Tampons

-Gel: 7,5% d'acrylamide / 2,6% de bis acrylamide - Tris*: 375 mM; 0,1% de SDS*; pH=8,8; catalyseur: 0,05% de persulfate d'ammonium; 0,05% de TEMED.

-Echantillon: Tris: 615 mM; 10% de glycérol; 2% de SDS; β-mercaptoéthanol: 0,3 mM; 0,05% de bleu de bromophénol; pH=6,8.

-Electrophorèse: Tris: 125 mM; glycine: 190 mM; SDS: 3,5 mM; pH=8,3.

Electrophorèse

Les échantillons à tester sont mélangés volume à volume avec le tampon d'échantillon mis au bain marie à 95°C pendant 5 min. puis déposés sur le gel à raison de 5 à 10 µl par puits. L'électrophorèse est poursuivie durant 40 min. à 200 V.

Coloration des gels

-Coloration au bleu de coomassie: dans une solution de 0,1% de bleu de coomassie R-250; 40% méthanol; 10% d'acide acétique, pendant 1h., sous agitation.

-Décoloration: dans une solution 40% méthanol; 10% d'acide acétique pendant 12 h
Les gels sont ensuite séchés pour conservation.

2.2.1.22-Préparation de l'ADN plasmidique pBR322 relâché (ADNr)

Le plasmide circulaire pBR 322, surenroulé négativement de *E.coli* (ADNs) provient des laboratoire Sigma. La topoisomérase I eucaryote, isolée de thymus de veau, est achetée auprès des laboratoires BRL, sous la dénomination Topo I EU. L'ADN plasmidique est relâché dans le tampon [Tris-HCl: 50 mM (pH=7,5); KCl: 50 mM; DTT: 10 mM; EDTA: 0,1 mM] par la topoisomérase I eucaryote suivant le protocole recommandé par ce fabricant et développé par N. Moreau (travaux non publiés).

* note de bas de page: Tris : Tris (hydroxyméthyl)aminométhane;

SDS : Dodécylsulfate de sodium.

2.2.1.221-Préparation de la solution 1

180 µl d'ADN surenroulé (pBR 322 DNA)
 + Tampon test: Topo I EU (3 fois concentré)
 +10 µl de Topo I EU
 Incubation de ce mélange 30 min. à 37°C.

2.2.1.222-Préparation de la solution 2 (solution d'extraction)

4,8 ml de chloroforme
 + 0,2 ml d'alcool isoamylique
 + 500 µl de la solution: 200 µl tampon test Topo I+ 400 µl d'eau distillée
 Nous prenons la phase organique.(solution 2)

2.2.1.223-L'extraction

1110 µl de la solution 2, additionnés de la solution 1, sont centrifugés (2 min.). La phase aqueuse est décantée une nouvelle fois avec 1110 µl de la solution 2.

L'ADN est récupéré par centrifugation puis lypophilisé par fractions 20 µl. L'ADN relâché (ADNr) obtenu est conservé à une température de -20°C.

2.2.1.224-Test de surenroulement de l'ADN

2 µl d'ADNr [une ampoule d'ADNr + 40 µl de tampon ADNr: (Tris HCl: 10 mM; NaCl: 5 mM; EDTA: 0,1 mM; pH=7,4)]

+5 µl tampon gyrase [43 µl de tampon gyrase 3 fois concentré: (KCl: 75 mM; HEPES: 60 mM; DTT: 12 mM; Spermidine*: 5,1 mM; (AcO)₂Mg: 18 mM; EDTA: 1,5 mM; Tris: 6 mM; Ethylène glycol: 9%; tRNA: 100 µg/ml; pH=7,6)].

+2 µl gyrase

+6 µl H₂O

Incubation 30 min. à 37°C.

+3 µl de solution (bleu de bromophénol à 0,4% + 60% de sucrose)

◆ Préparation du tampon d'électrophorèse

Solution 1: 70 ml de tampon électrophorèse [Tris HCl: 36 mM (43,61 g); EDTA: 1 mM (20 ml, 0,5 M); NaH₂PO₄.2H₂O: 30 mM (46,83 g); pH=7,6 (ajuster à l'aide d'acide chlorhydrique concentré)] +630 ml H₂O distillée.

* note de bas de page: Spermidine: H₂N-(CH₂)₄-NH-(CH₂)₃-NH₂.

♦ L'électrophorèse

-700 mg d'Indubiose A37NA (gel d'agarose); 70 ml de la *solution 1*; placer ce mélange 2 min. au four Micro-onde. Après refroidissement, le gel est coulé (épaisseur, = 5 mm) sur une plaque d'électrophorèse.

L'électrophorèse est réalisée en sous-marin dans le tampon d'électrophorèse (Tris HCl: 36 mM; EDTA: 1 mM; NaH₂PO₄.2H₂O: 30 mM; pH=7,6). L'échantillon préparé précédemment (18 µl) est déposé dans le puits puis un témoin d'ADNr (2 µl + 5 µl H₂O+ 3 µl de bleu de bromophénol) et un autre témoin d'ADNs (0,5 µl d'ADNs + 6,5 µl H₂O+ 3µl de bleu) sont déposés séparément dans des puits.

La migration est poursuivie durant 2 h. à 70 V. Le gel est coloré 10 min. dans une solution de bromure d'éthidium (BET) 0,1 µg/ml, rincé à l'eau distillée puis photographiée sous lumière U.V (302 nm) filtrée par Kodak Wratten 2028 (jaune) et 1194 (rouge) . Les films utilisés sont de type Polaroid 665.

La *figure 37* montre la migration de l'ADNr, ADNs, et d'ADNr + la gyrase.

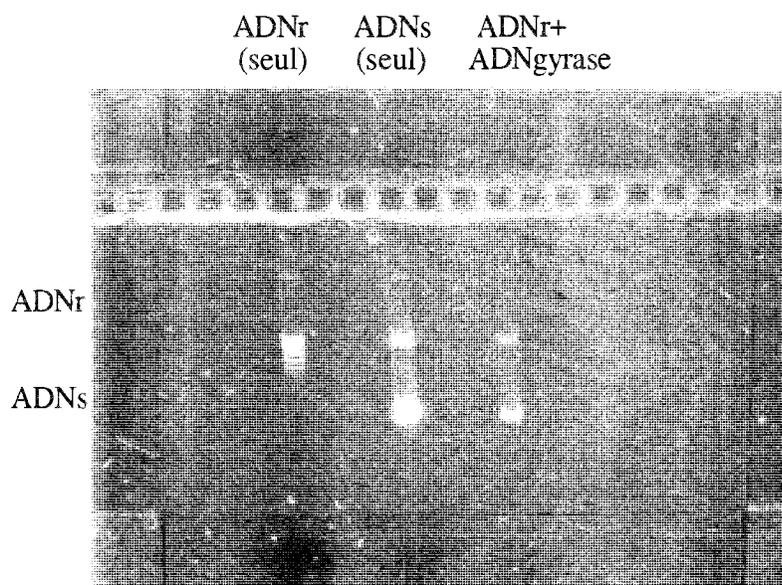


Figure 37 : Test de surenroulement d'ADNr par la gyrase
(ADNr : ADN relâché; ADNs : ADN surenroulé)

Le puits gauche présente la migration de l'ADNr, le puits central celle de l'ADNs et enfin le puits droit présente la migration de l'ADNr incubé avec l'enzyme ADN gyrase.

Dans ces conditions : Une unité (U) d'activité ADN gyrase représente la quantité d'enzyme qui peut surenrouler 50 ng d'ADN plasmidique relâché (ADNr).

2.2.2-Inhibition de l'activité d'ADN gyrase par nos produits

Les expériences d'inhibition se déroulent dans les tampons précédemment décrits. Des solutions mères de produits sont préparées et conservées à -20°C , une partie des produits est solubilisée dans l'eau en présence de NaOH et le pH est ajusté aussi près que possible de $\text{pH}=7,5$ sans que l'on observe de précipitation. L'autre partie est solubilisée dans l'eau et le diméthylsulfoxyde (DMSO) sachant que la quantité du DMSO nécessaire ne doit pas être inhibitrice de la gyrase.

Les dilutions sont effectuées dans les tampons des essais enzymatiques.

Le mélange réactionnel (volume final=15 μl) contient:

- 5 μl du tampon approprié (43 μl de tampon gyrase + 7 μl ATP)
- +2 μl d'ADNr
- +5 μl d'une gamme de concentrations du produit en expérience:
1920 mg/l, 384 mg/l, 38,4 mg/l et 3,84 mg/l.
- +1 μl d'eau distillée
- +2 μl de la gyrase

Dans ces conditions, les concentrations finales en produits sont respectivement de : 640 mg/l, 128 mg/l, 12,8 mg/l et 1,28 mg/l. Le mélange réactionnel est incubé pendant 30 min. à 37°C . Au terme de cette opération, la réaction enzymatique est arrêtée par refroidissement à 0°C puis addition de 3 μl de bleu de bromophénol (0,4 mM) dans 60% de sucrose.

L'électrophorèse sur gel d'agarose est préparée comme précédemment (cf.p.210)

Cette méthode d'étude d'inhibiteurs de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase a été validée (98) sur la Péfloxaciné et une quinolone des laboratoires Bristol-Myers BMY 33315 (formule p. 23).

L'inhibition de l'activité enzymatique se traduit par la disparition des topoisomères totalement surenroulés et par l'apparition des topoisomères présentant un degré de surenroulement moindre (qui migrent donc moins loin). Si la réaction est totalement inhibée, l'ADN gyrase ne surenroule pas l'ADNr.

La mesure de l'inhibition de l'activité de l'enzyme ADN gyrase est exprimée en donnant trois types de valeurs:

- ◆ Inhibition à 0% (CI_0): concentration en produit qui ne provoque que peu (ou pas) d'effet sur l'activité de la gyrase.
- ◆ Inhibition à 50% (CI_{50}): concentration en produit qui provoque la disparition de 50% de l'ADN plasmidique surenroulé.
- ◆ Inhibition à 100% (CI_{100}): concentration en produit à partir de laquelle l'enzyme est totalement inhibée.

Nous nous sommes limités à apprécier les pourcentages d'inhibition : 0% (CI₀) et 100% (CI₁₀₀) car les valeurs de (CI₅₀) habituellement déterminées sont difficiles à estimer. De plus, ces deux valeurs (CI₀ et CI₁₀₀) permettent d'évaluer la "largeur" du profil d'inhibition, c'est-à-dire la capacité d'un produit à inhiber plus ou moins rapidement la réaction enzymatique. Nous avons utilisé comme référence la Ciprofloxacine qui est la quinolone la plus récemment introduite en thérapeutique.

2.2.3-Résultats et discussion

Nous avons préparé des gammes de 4 dilutions de chacun des 113 produits s'intégrant dans les séries I-VIII et leurs intermédiaires **1-41**. Pour les composés **15**, **39** et **VIII_d**, qui se sont révélés intéressants, nous avons étendu la gamme de dilutions à 3 autres concentrations (128 mg à 0,6 mg/l).

Les figures 38 et 39 nous montrent quelques exemples d'inhibition de l'ADN gyrase par la Ciprofloxacine et quelques-uns des dérivés les plus actifs.

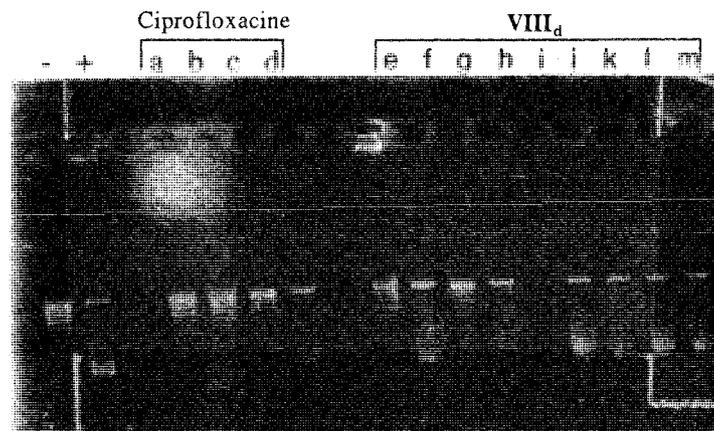


Figure 38 : Inhibition de l'ADN gyrase par:

- ◆ Ciprofloxacine (a: 128; b: 12,8; c: 1,28; d: 0,128 mg/l)
- ◆ **VIII_d** (e: 640; f: 128; g: 60; h: 30; i: 15; j: 12; k: 6; l: 3; m: 1,5mg/l)

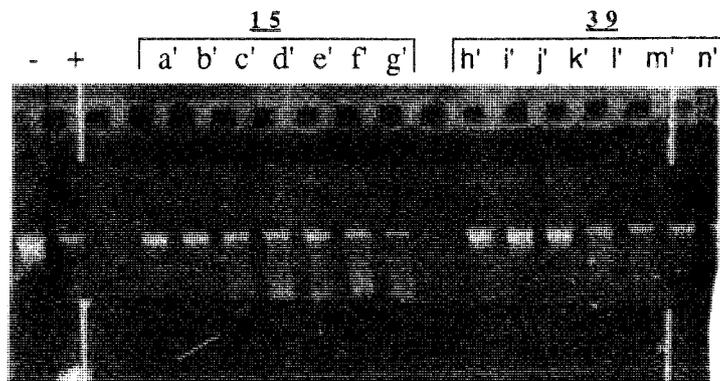


Figure 39 : Inhibition de l'ADN gyrase par:

- ◆ **15** (a': 128; b': 60; c': 30; d': 15; e': 6; f': 1,2; g': 0,6 mg/l)
- ◆ **39** (h': 128; i': 60; j': 30; k': 24; l': 15; m': 12; n': 6 mg/l)

Le *tableau XXXVI* précise les concentrations (exprimées en mg/l) des 113 molécules synthétisées.

- ♦ CI₀ : concentration n'engendrant aucune inhibition de l'activité de l'ADN gyrase.
- ♦ CI₁₀₀ : concentration engendrant une inhibition totale de cette même activité enzymatique.

Tableau XXXVI: CI₀ et CI₁₀₀ (mg/l) des analogues ouverts et monocycliques des quinolones présentées dans ce mémoire

N°	CI ₀	CI ₁₀₀	N°	CI ₀	CI ₁₀₀
Series I, II, III, IV, et V	Aucun des produits I à V n'a révélé une CI ₁₀₀ <640.		Serie VII	Aucun des produits VIIa-e n'a révélé une CI ₁₀₀ <640.	
<u>13</u> <u>38</u>	>128	640	<u>VIIIa</u> <u>VIIIc</u>	>128	640
<u>39</u>	24,0	30,0	<u>VIII d</u>	128	640
<u>40</u>	>128	640	<u>VIII e</u> <u>VIII f</u>	>128	640
Serie VI	>128	640	<u>41</u>	>128	640

Références : Quinolones* inhibitrices de l'ADN gyrase

Quinolone	Ciprofloxacin	Sparfloxacin	Péfloxacin	Tosufloxacin	Ac. nalidixique
CI ₁₀₀	0,1	0,2	0,5	1,5	10

* Structures : cf.p. 18 et 23.

L'analyse du *tableau XXXVI* permet de dégager les points suivants :

- ♦ Les produits des séries I, II, III, IV, et V ne sont pas inhibiteurs de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase sauf à forte concentration (CI₁₀₀> 640 mg/l). L'absence du motif acide explique l'inactivité des esters I et V et des nitriles II - IV.
- ♦ Les produits de 1 à 7, sont également inactifs, ce que l'on peut expliquer par l'absence des pôles cétoniques et carboxyliques ainsi que par une géométrie très différente de celle des quinolones.
- ♦ Les produits 8 à 12 ne révèlent aucun pouvoir inhibiteur de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase, ce qui est à rapprocher de l'inactivité des produits de la série V.
- ♦ Parmi les produits 13 à 40 (intermédiaires de la série VI), seul le produit 39 (R=2.4-Cl₂ Ph) révèle une certaine activité inhibitrice (CI₀= 24,0 mg/l, et CI₁₀₀ = 30 mg/l) (cf. *figure 39*; p.214)

♦ En ce qui concerne les “monoquinolones” :

Les acides **VI** et les esters **VII** ne révèlent aucune activité inhibitrice à l'égard de l'ADN gyrase.

En série **VIII**, seul l'acide **VIII_d** présente une activité très modeste (CI₀= 128,0 mg/l) d'inhibition de l'ADN gyrase (cf. *figure 38*, p.214)

Si on compare ces différentes structures “monoquinolones” avec celles des dérivés de Narita (**38**), nous pouvons avancer l'hypothèse que l'inactivité de nos produits pourrait être due à l'absence d'un pôle aromatique sur le carbone 6.

2.3-Activité antibactérienne

2.3.1-Principe

La détermination des CMI constitue une première approche du spectre antibactérien et permet un aménagement du drug-design de nos objectifs.

La concentration minimale inhibitrice (CMI), exprimée en mg/l, est la concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de culture visible. La présence d'une à trois cultures n'est pas prise en compte. Ces valeurs ont été déterminées par rapport à une batterie de 8 germes* de métabolismes variés :

4 germes à Gram-positif (*S.aureus* ATCC 10337: **S a**; *S.faecalis* IPP 5434: **S f**; *B.subtilis* var.globigii CCTM 2722: **B s**; *C.xerosis* IPL 5216: **C x**).

4 germes Gram-négatif (*E.coli* ATCC 10536: **E c**; *P.mirabilis* NCTC 8309: **P m**; *P.aeruginosa* ATCC 10145: **P a**; *E.aerogenes* ATCC 13084: **E a**).

2.3.2-Méthodologie

2.3.2.1-Préparation de l'inoculum

Les bactéries sont repiquées sur milieu Trypticase Soja de Bio-Merieux (pH : 7,3). Ces cultures de 24 h. servent à préparer l'inoculum par mise en suspension dans 5 ml d'eau distillée stérile des microorganismes prélevés à l'aide d'une öse de 2 mm de diamètre. Puis, on ajuste la turbidité de cette suspension au point 0,5 de l'échelle de Mc Farland.

* Origine des souches

ATCC	: American Type Culture Collection
IPP	: Institut Pasteur de Paris
IPL	: Institut Pasteur de Lille
NCTC	: National Collection of Types Cultures

2.3.2.2-Préparation des boîtes de Petri

Pour chaque dérivé, on prépare une solution aqueuse à 1 g/l du dérivé sodé (1 ml de NaOH 0,1 N + 9 ml eau). Cependant, pour les dérivés très peu solubles (**34**, **Vf** et **VIII_{d,f}**), nous avons eu recours au mélange DMF/H₂O (1 : 9) dont, bien entendu, nous nous sommes assurés de la totale innocuité :

2 ml de cette solution mère (ou de ses dilutions convenables en progression géométrique d'ordre 2) sont ajoutés à 18 ml de milieu gélosé de Mueller-Hinton, maintenu en surfusion à 50°C puis après, homogénéisation, coulés dans une boîte de Petri (diamètre : 90 mm).

Les concentrations finales en agent antibactérien testé sont dans une expérimentation complète pour chaque boîte de Petri, respectivement de : 256, 128, 64, 32, 16,8, 4,2 et 1 mg/l.

Un protocole analogue est conduit parallèlement en substituant à la solution de dérivé :

-d'une part, 2 ml d'eau stérile, culture témoin de la souche bactérienne en expérience.

-d'autre part, 2 ml d'une solution de quinolone commerciale selon la même séquence de dilution que celle décrite précédemment.

Après prise en masse (les boîtes de Petri étant placées, couvercles ouverts, durant 1 à 2 h. dans une étuve maintenue à 37°C), la surface de gélose estensemencée en stries avec chacun des germes considérés auquel aura été préalablement affecté un secteur de la boîte.

2.3.2.3-Lecture des résultats

Elle est réalisée après 24 et 48 h. d'incubation à 37°C, comparativement aux antibactériens de référence figurés dans le *tableau XXXVII*.

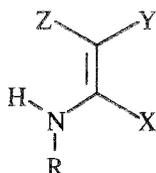
♦ *Tableau XXXVII* : CMI de quelques quinolones déterminées sur notre batterie de souches

	Gram-positif				Gram-négatif			
	S a	S f	B s	C x	E c	P m	P a	E a
1^{ère} génération								
Acide nalidixique	128	>128	2	-	2	8	100	-
Acide oxolinique	8	64	0,250	-	0,500	1	32	-
Fluméquine	1	>128	0,125	-	0,125	0,5	128	-
2^{ème} génération								
Ciprofloxacine	0,500	1	-	1	0,125	0,125	0,500	0,125
Norfloxacine	1	4	-	4	0,250	0,250	8	1
Ofloxacine	1	2	-	2	0,250	0,250	4	0,250

2.3.3-Résultats et discussion

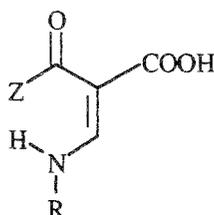
Nous rapportons, dans les *tableaux XXXVIII à XXXXII*, les CMI (mg/l) des 113 composés synthétisés.

◆ Tableau XXXVIII : CMI (mg/l) des esters et nitriles I-IV.



Série	X	Y	Z	Batterie de souches bactériennes
				S a/S f/B s/C x/F c/P m/P a/E a
Ia-f	Me	COOEt	H	Aucun des produits Ia-f , IIa-d , IIIa-g et IVa-e n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l.
IIa-d	Me	CN	H	
IIIa-g	H	COOEt	CN	
IVa-e	H	CN	Cn	

◆ Tableau XXXIX : CMI (mg/l) du N-arylaminoéthylèneacétate d'éthyle V.



N°	R	Z	S a	S f	B s	C x	E c	P m	P a	E a
Va-e Structures (cf. p. 80)			Aucun des produits Va à Ve n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l.							
Vf	2-HO,4-Me Ph	Me	192	192	192	192	192	94	192	192
Vg	2-Me,4-HO Ph	Me	94	94	94	94	>256	192	>256	>256
Vn	2-HO,4-Me Ph	Ph	192	192	192	192	>256	>256	>256	>256
Vh-m et Structures Vo-v (cf. p. 80 et 81)			Aucun des produits Vh-m et Vo-v n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l.							

S a : *S.aureus* ATCC 10337

S a : *S.faecalis* IPP 5434

B s : *B.subtilis* var. globigii CCTM 2722

C x : *C.xerosis* IPL 5216.

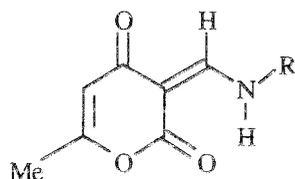
E c : *E.coli* ATCC 10536

P m : *P.mirabilis* NCTC 8309

P a : *P.aeruginosa* ATCC 10145

E a : *E.aerogenes* ATCC 13084

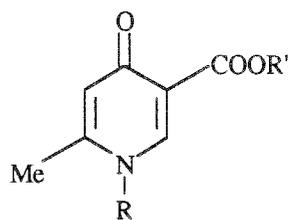
◆ Tableau XXXX : CMI (mg/l) du 3-N.subst.aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone **13** - **40** .



N°	R	S a	S f	B s	C x	E c	P m	P a	E a
25	4-Me Ph	128	128	94	128	>256	192	>256	>256
27	4-NO ₂ Ph	>256	192	94	192	192	>256	>256	>256
34	3-NO ₂ -4-Cl ₂ Ph	>256	>256	192	>256	>256	>256	>256	>256
13- 24, 26, 28-33 et 35-40 (Structures cf. p.92)		Aucun des produits 13- 24, 26, 28-33 et 35-40 n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI<128 mg/l.							

Remarques : Les dérivés **1-7** (structures p.72 et 74), les N,N-diméthylaminométhylèneacétylacétates d'éthyle **8-10** (structures p.80) et les acides N.4-fluorophénylaminométhylèneacétylacétiques (structure p. 82) sont également inactifs à l'égard de la batterie de souches ci-dessus indiquée.

◆ Tableau XXXXI : CMI (mg/l) des acides 1-alcoyl(cycloalcoyl, aryl)aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VI**.



VI : R' : H

VII : R' : Et,CH₂COOEt

S a	S f	B s	C x	E c	P m	P a	E a
VI (cf. structures p.93) et VII (cf. structures p.99)		Aucun des acides VI_{a-s} et des esters VII_{a-e} n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI<128 mg/l.					

S a : *S.aureus* ATCC 10337

S a : *S.faecalis* IPP 5434

B s : *B.subtilis* var.globigii CCTM 2722

C x : *C.xerosis* IPL 5216.

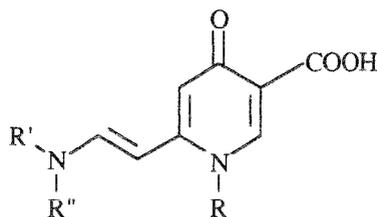
E c : *E.coli* ATCC 10536

P m : *P.mirabilis* NCTC 8309

P a : *P.aeruginosa* ATCC 10145

E a : *E.aerogenes* ATCC 13084

◆ Tableau XXXXII : CMI (mg/l) des acides 1-alcoyl(aryl)-4-oxo-6[2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VIIIa-e** et de l'acide 1-(4-t.méthylphényl)-6[2-N(2,4-dichlorophénylamino)vinyl]-4-oxo-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **VIII f**.



N°	R	R'	R''	S a	S f	B s	C x	E c	P m	P a	E a	
VIIIa-c et VIIIe	structures (cf. p.106)			Aucun des acides VIIIa-c et VIIIe n'a révélé, par rapport à toutes ces souches, une CMI < 128 mg/l.								
VIII d	4-t.Bu	Ph	Me	Me	94	64	16	48	>256	>256	>256	>256
VIII f	4-MeO	H	2,4-Cl ₂	Ph	48	48	48	48	>256	>256	>256	>256

S a : *S.aureus* ATCC 10337
S a : *S.faecalis* IPP 5434
B s : *B.subtilis* var.globigii CCTM 2722
C x : *C.xerosis* IPL 5216.

E c : *E.coli* ATCC 10536
P m : *P.mirabilis* NCTC 8309
P a : *P.aeruginosa* ATCC 10145
E a : *E.aerogenes* ATCC 13084

IV-CONCLUSION

L'objectif du travail qui nous a été confié consistait à concevoir puis à synthétiser des analogues "ouverts ou monocycliques" de quinolones inhibiteurs de l'ADN gyrase. Cette approche de la thérapeutique anti-infectieuse est confortée par le remarquable pouvoir antibiotique des fluoroquinolones (actuellement introduites en clinique) et demain des difluoroquinolones qui, toutes, sont des structures polycycliques isologues présentant les mêmes points faibles génériques : inactivité sur les Staphylocoques méthicillino-résistants, effets indésirables sur le mécanisme de l'osséification qui conduit à contre-indiquer ces anti-infectieux chez l'enfant, la femme enceinte et celle qui allaite. L'objectif pharmaco-clinique que nous avons poursuivi se veut complémentaire de ces dernières en ce qui concerne le spectre antibactérien (extension vers le champ des germes à Gram-positif) et se propose de plus, d'identifier de nouveaux composés de tête susceptibles de diversifier le panel des archétypes antibactériens actuellement existants.

Les 8 séries chimiques (**S1-8**) que nous avons étudiées ont été conçues afin d'optimiser une activité antibactérienne potentiellement inscrite dans :

- ◆ la géométrie moléculaire (distances interatomiques, angles de valence,...) qui est superposable à celle du modèle oxacine (La modélisation moléculaire est réalisée par le programme Alchemy II).
- ◆ la présence d'enchaînements pharmacophores antibactériens (structure: ester β -cétonique, èneaminones; noyau dihydropyridone-3-carboxylique;.....) que nous avons identifiés lors de recherches antérieures.
- ◆ le niveau de lipophilie moléculaire (log P calculé selon Hansch-Léo) s'intégrant dans le créneau 0,80-2,55 des oxacines les plus actives.

A cet effet, partant de la structure N-subst.aminoprop-2-énoïque (**S1**), nous sommes parvenu, par une construction progressive et logique, à la structure 1,4-dihydro-4-oxo-pyridinecarboxylique (**S5**) puis à son analogue 6-aminovinyle (**S6**)

Dans le cadre de ce "drug design", notre recherche a consisté :

- 1) Sur le plan chimique, à réaliser la synthèse de 80 composés finaux originaux (113 produits synthétisés).
- 2) Sur le plan microbiologique, à évaluer à la fois, leur pouvoir inhibiteur à l'égard de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase et leur activité antibactérienne déterminée sur une batterie de huit souches de métabolismes variés. (4 germes à Gram-positif, 4 germes à Gram-négatif).

→ Synthèse

Nous avons effectué la synthèse de 8 séries de composés originaux comportant l'enchaînement acide-structure N-subst.aminoprop-2-énoïque minimum, conformément à des objectifs pharmacochimiques clairement définis. Pour chacune d'entre elles nous avons rappelé les différentes voies d'accès à la structure et précisé les raisons du choix des méthodes retenues. Ces différentes séries se répartissent de la façon suivante :

- ◆ N-subst.aminobut-2-énoates d'éthyle **I** et N-subst.aminobut-2-nitriles **II**.
- ◆ N-subst.aminométhylèncyanoacétates d'éthyle **III** et N-subst.aminométhylènemalononitrile **IV**.
- ◆ Acide 1,6-naphtyridine-2-one-3-carboxylique **5**.
- ◆ Acides N-subst.aminométhylèneacylacétiques **V (S4)**.
- ◆ Acides N-subst.-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VI (S5)**.
- ◆ N-subst.-4-oxo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylates d'éthyle **VIIa-d** et d'éthoxycarbonylméthyle **VIIe**.
- ◆ Acides N-subst.-4-oxo-6-[(2-N,N-diméthylamino)vinyl]-1,4-dihydropyridine-3-carboxyliques **VIIIa-f**.
- ◆ Acide 1-(4-méthoxyphényl)-4-oxo-5-bromo-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylique **41(S7)**.

Les synthèses multi-stades que nous avons mises en oeuvre, en particulier en série **S3**, nous ont permis de démontrer l'inexactitude de la structure cyclique publiée par Kuthan et de proposer un mécanisme réactionnel conduisant à la dièneamine acyclique (*2Z,4E*) dont nous avons aussi obtenu l'isomère (*2Z,4Z*). La structure des 113 composés synthétisés, dont nous précisons les caractéristiques physico-chimiques, a été confirmée par les moyens analytiques habituels (spectres IR, RMN ¹H, RMN ¹³C, microanalyse,...) et, également, par spectrométrie de masse à 70 eV. Disposant des données spectrales des structures isologues d'une même série, nous proposons un schéma général de fragmentation des classes chimiques de structures **S5, S6, S7** ou **S8**.

→ Activité biologique

◆ Inhibition de l'activité enzymatique de l'ADN gyrase

Ces mesures de biologie moléculaire (CI₀ et CI₁₀₀) constituent des marqueurs très sensibles (valeur de la CMI divisée par un facteur de 10) de la potentialité antimicrobienne. Parmi tous les composés testés, c'est la 3-N-(2,4-dichlorophényl) aminométhylène-4-oxo-6-méthyl-2-pyrone (**39**) qui présente la meilleure activité inhibitrice (CI₀: 24 mg/l et CI₁₀₀: 30 mg/l)

◆ Spectre antibiotique

Une première approche du spectre antimicrobien, réalisé sur les 113 composés à l'égard de 8 souches (4 germes à Gram-positif et 4 germes à Gram-négatif), révèle une activité modeste (CMI = 50 mg/l) des acides aminovinylpyridone-3-carboxyliques **VIII_d** et **VIII_f**.

Ce spectre est focalisé sur les seuls germes à Gram-positif. Cette spécificité nous paraît originale et intéressante compte-tenu du préoccupant problème des infections nosocomiales. Cette intéressante propriété devrait pouvoir être potentialisée par adjonction de cycle (1,6-naphtyridine cf. **S3**, p. 67), fonctionnalisation (introduction d'atome de fluor), insertion de l'atome d'azote dans un hétérocycle (azétidinyl, pyrrolidinyl, pipéridinyl) diversement substitué (métabolites actifs).

V-BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ADACHI T., MIZUUCHI M., ROBINSON E.A., APELLA E., O'DEA M.H., GELLERT M., MIZUUCHI K.
DNA sequence of the *E.coli gyrB* gene: application of a new sequencing strategy.
Nuc.Acids Res., 1987,15(2),771-774.
- 2 - AGUI H., TOBIKI H., NAKAGOME T.
Studies on quinoline derivatives and related compounds. III. A novel pyridine synthesis to give substituted 1,4-dihydro-4-oxonicotinic acids (1).
J.Heterocyclic Chem., 1975,12(6),1245-1254.
- 3 - AIN KHAN M., GUARÇONI A.E.
Thieno(2,3-b)pyridines and thieno(3,2-b)pyridines by the method of Gould-Jacobs.
J.Heterocyclic Chem., 1977,14,807-812.
- 4 - ALBRECHT R.
Development of antibacterial agents of the nalidixic type.
Prog.Drug Res., 1977,21,9-104.
- 5 - BALDWIN J.J., MENSLER K., PONTICELLO G.S.
A novel naphthyridinone synthesis via enamine cyclization.
J.Org.Chem., 1978,43(25),4878-4880.
- 6 - BALDWIN J.J., RAAB A.W., PONTICELLO G.S.
Utilization of β,γ -unsaturated aldehyde equivalents in the synthesis of substituted 2-halonicotinic acid derivatives.
J.Org.Chem., 1978,43(12),2529-2535.
- 7 - BALOGH M., HERMECZ I., SIMON K., PUSZTAY L.
Studies on naphthyridines. Part 2(1). Synthesis of 4-substituted and 6-substituted 1,6-naphthyridin-5(6H)-ones.
J.Heterocyclic Chem., 1989,26,1755-1769.
- 8 - BEDARD J., WONG S., BRYAN L.E.
Accumulation of Enoxacin by *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.
Antimicrob.Agents Chemother., 1987,31(9),1348-1354.
- 9 - BENBROOK D.M., MILLER R.V.
Effects of Norfloxacin on DNA metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*.
Antimicrob.Agents.Chemother., 1986,29(1),1-6.
- 10 - BENHAM J.C.
Supercoiled DNA .
Comments Mol.Cell.Biophys., 1986,4(1),35-54.
- 11 - BERGER J., SCHOCHER A.J., BATCHO A.D., PECHERER B., KELLER O., MARICQ J., KARR A.E., VATERLAUS B.P., FURLENMEIER A., SPEIGELBERG H.
Production, isolation and synthesis of the coumermycins (Sufgordomycins), a new *Streptomyces* antibiotic complex.
Antimicrob.Agents Chemother., 1965,778-785.
- 12 - BOUANCHAUD D.H., BARREAU M., MAYOUX A., PICAUT G., ROLIN O.
Structure-activité parmi les quinolones. (p. 9-14)
in: Les nouvelles quinolones. POCIDALO J.J., VACHON F., REIGNIER M., Edit. Arnette, 1985, Paris.

- 13 - BOUZARD D., DI CESARE P., ESSIZ M., JACQUET J.P., REMUZON P., WEBER A., OKI T., MASUYOSHI M.
Fluoronaphthyridines and quinolones as antibacterial agents. I. Synthesis and structure-activity relationships of new 1-substituted derivatives.
J. Med. Chem., 1989, **32**, 537-542.
- 14 - BREAUX E.J., ZWIKELMAIER K.E.
An improved general synthesis of 4-aryl-5-pyrimidinecarboxylates.
J. Heterocyclic Chem., 1981, **18**, 183-184.
- 15 - BRIGHTY K., Mc GUIRK P.R.
Chapter 13, Antibacterial agents
Annal. Reports Med. Chem., 1991, **26**, 123-130.
- 16 - CHAMPOUX J.J., ARONOFF R.
The effects of camptothecin on the reaction and the specificity of the wheat germ type I topoisomerase.
J. Biol. Chem., 1989, **264**(2), 1010-1015.
- 17 - CHAPMAN J.S., GEORGOPAPADAKOU N.H.
Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*.
Antimicrob. Agents Chemother., 1988, **32**(4), 438-442.
- 18 - CHAUDHURY A.M., SMITH G.R.S.
Role of *Escherichia coli*. RecBC enzyme in SOS induction.
Mol. Gen. Genet., 1985, **201**, 525-528.
- 19 - CHU T.W., FERNANDES P.B.
Structure-activity relationships of the fluoroquinolones.
Antimicrob. Agents Chemother., 1989, **33**(2), 131-135.
- 20 - CLAISEN L.
Untersuchungen über die oxymethylen erbindungen.
Liebigs Annal. Chem., 1897, **297**, 1-13.
- 21 - COCCO M.T., CONGIU C., MACCIONI A.
Synthesis of pyridines by heterocyclization of new dienamino esters.
J. Heterocyclic Chem., 1990, **27**, 1143-1151.
- 22 - COCCO M.T., CONGIU C., MACCIONI A., PLUMITALLO A.
Synthesis of 6-amino and 6-ethoxy-2-(1H)-pyridinone derivatives.
J. Heterocyclic Chem., 1989, **26**, 1859-1862.
- 23 - CRUMPLIN G.C., KENWRIGHT M., HIRST T.
Investigations into the mechanism of action of the antibacterial agent Norfloxacin.
J. Antimicrob. Chemother., 1984, **13**(Suppl. B), 9 - 23.
- 24 - CUVIGNY T., NORMANT H.
Synthèse de composés γ -éthyléniques à partir des magnésiens vinyliques.
Bull. Soc. Chim. France, 1961, 2423-2433.
- 25 - D'ENFERT J.
Les nouvelles quinolones.
La lettre du pharmacologue, 1987, **1**(1), 18-21.

- 26 - DAIKOS G.L., LOLANS V.T., JACKSON G.G.
Alteration in outer membrane proteins of *Pseudomonas aeruginosa* associated with selective resistance to quinolones.
Antimicrob.Agents Chemother., 1989,32(5),785-787.
- 27 - DEDINA J., KUTAHAN J., PALECEK J., SCHRAML J.
¹H-NMR spectra and nuclear overhauser effect in *E* and *Z* isomers of 3-substituted 3-aminoacrylonitriles.
Collect. Czech.Chem.Comm., 1975,40,3476-3490.
- 28 - DEJOHN D., DOMAGALA J.M., KALTENBRONN J.S., KROLLS U.
Fonctionalization of substituted 2(1H)- and 4(1H)-pyridones. III. The preparation of substituted 6-vinyl-1,2-dihydro-2-oxo- and 1,4-dihydro-4-oxo-3-pyridinecarboxylic acids through the chemistry of pyridone dianions.
J.Heterocyclic Chem., 1983,20,1295-1302.
- 29 - DEPEW R.E., LIU L.F., WANG J.C.
Interaction between DNA and *E.coli* protein ω .
J.Biol.Chem., 1978,253(2),511-518.
- 30 - DIVER J.M.
The mode of action of the 4-quinolones: An update
Quinolones bulletin, 1988,4,25-28.
- 31 - DIVER J.M., WISE R.
Morphological and biochemical changes in *Escherichia coli* after exposure to Ciprofloxacin.
J.Antimicrob.Chemother., 1986,18(Suppl. D),31-41.
- 32 - DOMAGALA J.M.
Functionalization of substituted 2(1H)- and 4(1H)-pyridones. 4. Synthesis of substituted 6-(aminocarbonyl)-1,2-dihydro-2-oxo- and 6-(aminovarbonyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-pyridinecarboxylic acids.
J.Org.Chem., 1984,49,126-130.
- 33 - DOMAGALA J.M., HANNA L.D., HEIFETZ C.L., HUTT M.P., MICH T.F., SANCHEZ J.P., SOLOMON M.
New structure-activity relationships of the quinolone antibacterials using the target enzyme. The development and application of a DNA gyrase assay.
J.Med.Chem., 1986,29,394-404.
- 34 - DOMAGALA J.M., HEIFETZ C.L., HUTT M.P., MICH T.F., NICHOLS J.B., SOLOMON M., WORTH D.F.
1-Substituted 7-(3-((Ethylamino) methyl)-1-pyrrolidinyl)-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acids. New quantitative structure-activity relationships at N-1 for the quinolone antibacterials.
J.Med.Chem., 1988,31,991-1001.
- 35 - DREYFUSS M.E., MIDGLEY J.M.
Structure-activity relationships in aromatic ring fused 4-pyridones substituted at position-3.
J.Pharm.Pharmacol., 1983,(S35), 75.
- 36 - DRLICA K., FRANCO R.J.
Inhibitors of DNA topoisomerases.
Biochemistry, 1988,27(7),2253-2259.

- 37 - ELLIOTT T.S.J., SHELTON A., GREENWOOD D.
The response of *Escherichia coli* to Ciprofloxacin and Norfloxacin.
J.Med.Microbiol., 1987,23(1),83-88.
- 38 - ELWELL L.P., WALON L.M., BESTERMAN J.M., HUDSON A.
Use of an *in vitro* DNA strand-breakage assay to monitor compound interactions with DNA gyrase.(p.87-102)
in: The 4-Quinolone. Antibacterial agents in vitro. CRUMPLIN G.C., Edit. Springer-Verlag, London,1990.
- 39 - ENGLE E.C., MANES S.H., DRLICA K.
Differential effects of antibiotics inhibiting gyrase.
J.Bacteriol., 1982,149,92-98.
- 40 - FERNANDES P.B.
Mode of action, and *in vitro* and *in vivo* activities of the fluoroquinolones.
J.Clin.Pharmacol., 1988,28,156-168.
- 41 - GELLERT M., MIZUUCHI K., O'DEA M.H., NASH H.A.
DNA gyrase: An enzyme that introduces superhelical turns into DNA.
Proc.Natl.Acad.Sci., (USA), 1976,73 (11),3872-3876.
- 42 - GELLERT M., MIZUUCHI K., O'DEA M.H., ITOH T., TOMIZAWA J.-I.
Nalidixic acid resistance: A second genetic character involved in DNA gyrase activity.
Proc.Natl.Acad.Sci., (USA), 1977,74(11),4772-4776.
- 43 - GELLERT M., O'DEA M.H., ITOH T., TOMIZAWA J.
Novobiocin and coumermycin inhibit DNA supercoiling catalyzed by DNA gyrase.
Proc.Natl.Acad.Sci.(USA), 1976,73(12),4474-4478.
- 44 - GEORGOPAPADAKOU N.H., DIX B.A., ANGEHRN P., WICK A., OLSON G.L.
Monocyclic and tricyclic analogs of quinolones: Mecanism of action.
Antimicrob.Agents Chemother., 1987,31(4),614-616.
- 45 - GOULD R.G., JACOBS W.A.
The synthesis of certain substituted quinolones and 5,6-benzoquinolines.
J.Am.Chem.Soc., 1939,61,2890-2895.
- 46 - HAMANA M., KUMADAKI S.
Studies on tertiary amine oxides LXIV. Reaction of 4-nitroquinoline 1-oxide and related compounds with potassium cyanide.
Chem.Pharm.Bull., 1978,26(12),3856-3862.
- 47 - HERTZBERG R.P., CARANFA M.J., HECHT S.M.
On the mechanism of topoisomerase I inhibition by campthecin: Evidence for binding to an enzyme-DNA complex.
Biochemistry, 1989,28(11),4629-4638.
- 48 - HINMAN J.W., HOEKSEMA H., CARON E.L., JOCKSON W.G.
The partial structure of novobiocin (Streptonivicin).
J.Am.Chem.Soc., 1956,78,1072-1074.
- 49 - HOEKSEMA H., JOHNSON J.L., HINMAN J.W.
Structural studies on streptonivicin, a new antibiotic.
J.Am.Chem.Soc., 1955,77,6710-6711.

- 50 - HOOPER D.C., WOLFSON J.S., TUNG C., SOUZA K.S., SWARTZ M.N.
Effect of inhibition of the B subunit of DNA gyrase on conjugation in *Escherichia coli*.
J.Bacteriol., 1989, **171**(4), 2235-2237.
- 51 - HOPPER D.C., WOLFSON J.S., EVA Y., SWARTZ M.N.
Mechanism of action of Ciprofloxacin.
Am.J.Med., 1987, **82**(Suppl. 4A), 12-20.
- 52 - HSIANG Y.H., HERTZBERG R., HECHT S., LIU L.F.
Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I.
J.Biol.Chem., 1985, **260**(11), 14873-14878.
- 53 - HSIANG Y.H., WU H.Y., LIU L.F.
Topoisomerases: Novel therapeutic targets in cancer chemotherapy.
Biochem.Pharmacol., 1988, **37**(9), 1801-1802.
- 54 - HUSSY P., MAAS G., TÜMLER F., GROSSE F., SCHOMBURG U.
Effect of 4-quinolones and novobiocin on calf thymus DNA polymerase alpha primase complex, topoisomerase I and II, and growth of mammalian lymphoblasts.
Antimicrob.Agents Chemother., 1986, **29**(2), 1073-1078.
- 55 - IMAMURA M., SHIBAMURA S., HAYAKAWA I., OSADA Y.
Inhibition of DNA gyrase by optically active Ofloxacin.
Antimicrob.Agents Chemother., 1987, **31**(2), 325-327.
- 56 - JANKNEGT R.
Fluorinated quinolones . A review of their mode of action, antimicrobial activity, pharmacokinetics and clinical efficacy.
Pharm.Weekbl.Sci.Ed., 1986, **8**, 1-21.
- 57 - KADOYA S., SUZUKI N. TAKAMURA I., DOHMORI R.
Synthetic chemotherapeutic agents. III. Synthesis of 3-substituted thiazolo (5,4-f) quinoline derivatives.(1)
Chem. Pharm.Bull., 1976, **24**(1), 147-155.
- 58 - KAMETANI T., KIGASAWA K., HIIRAGI M., WAKISAKA K., KUSAMA O., SUGI H., KAWASAKI K.
Synthesis studies on chemotherapeutics. II. (1) Synthesis of phenyl-substituted 1,4-dihydro-4-oxonicotinic acid derivatives. (Studies on the synthesis of heterocyclic compounds. Part 704(2)).
J.Heterocyclic Chem., 1977, **14**, 477-482.
- 59 - KAWAGUCHI H., TSUKIURA H., OKANISCHI M., MIYAKI T., OHMORI T., FUJISAWA K., KOSHIYAMA H.
Coumermycin, a new antibiotic. I. Production, isolation and characterization of coumermycin A₁.
J.Antibiotics (Tokyo), 1965, **18**(1), 1-10.
- 60 - KILBOURN E.E., SEIDEL M.C.
Synthesis of N-alkyl-3-carboxy-4-pyridones.
J.Org.Chem., 1972, **37**(8), 1145-1148.
- 61 - KIRCHHAUSEN T., WANG J.C., HARRISON S.C.
DNA gyrase and its complexes with DNA: Direct observation by electron microscopy.
Cell., 1985, **41**(3), 933-943.

- 62 - KUTHAN J., ILAVSKY D., KRECHL J., TREKA P.
Functional derivatives of 2-propenylidene-1,2-dihydropyridine.
Tetrahedron Letters, 1976,51,4763-4764.
- 63 - KUTHAN J., ILAVSKY D., KRECHL J., KUBELKA V., TRSKA P.
New cyclocondensation reaction of 3-alkylaminocrotonitriles.
Collect.Czech.Chem.Comm., 1978,43,2024-2036.
- 64 - LE GOFFIC F.
Les quinolones, mécanisme d'action.(p.15-23)
In:Les nouvelles quinolones.POCIDALO J.J., VACHON F., REIGNIER M., Edit.
Arnette, 1985, Paris.
- 65 - LESHER G.Y., FORELICH E.J., GRUETT M.D., BAILEY J.H.,
BRUNDAGE R.P.
1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents.
J.Med.Chem., 1962,5,1063-1065.
- 66 - LITTLE J.W., MOUNT D.W.
The SOS regulatory system of *Escherichia coli*.
Cell., 1982,29,11-22.
- 67 - LOPPINET V., MAIGRET B., NSWADI N., LARCHER D.
Quantification des effets de substitution du noyau dihydropyridone des oxacines:
Design de nouvelles quinolones anti-infectieuses.
1ère Journées franco-belges de pharmacochimie 1987,1 et 2 Octobre, Lille
- 68 - Mc EACHERN F., FISHER L.M.
Regulation of DNA supercoiling in *Escherichia coli*: Genetic basis of a compensatory
mutation in DNA gyrase.
FEBS Lett., 1989,253(1,2),67-70.
- 69 - MENOZZI G., MOSTI L., SCHENONE P.
Reaction of 2-dimethylaminomethylene-1,3-diones with dinucleophiles.VI. Synthesis
of ethyl or methyl 1,5-disubstituted 1H-pyrazole-4-carboxylates.
J.Heterocyclic Chem., 1987,24,1669-1675.
- 70 - MESZAROS Z., HERMECZ I.
Nitrogen bridgehead compounds III. New ring transformation I.
Tetrahedron Letters, 1975,12, 1019-1020.
- 71 - MICHEL-BRIAND Y.
Les inhibiteurs des gyrases.(p. 262-271)
in: Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques, MICHEL-BRIAND Y.,
Edit: Masson, 1986, Paris.
- 72 - MITTELBACH M.
An easy convenient synthesis of 6-methyl-4(1H)-pyridone-3-carboxylic acid
Synthesis,1988,479-480.
- 73 - MOMME,GOTTSCHALDT
Über die halbesten der α,α' -dimethyl-cinchromeronsäure.
Ber., 1922,55,2064-2075.

- 74 - MOREAU N.
Mécanismes moléculaires de bactéricidie: Quinolones.(p.35-47)
in: Bactéricidie, COURVALIN P., DRUGEON H., FLANDROIS J.-P.,
GOLDSTEIN F. Edit. Maloine, Paris.
- 75 - MOREAU N.
Progrès récents dans le domaine des antibiotiques de la série des quinolones.
Actual.Chim.Ther., 1985,12ème série,239-246.
- 76 - MOREAU N., ROBAUX H., BARON L., TABARY X.
Inhibitory effects of quinolones on pro- and eucaryotic topoisomerases I and II.
Antimicrob.Agents Chemother., 1990,34(10),1955-1960.
- 77 - MORRISON A., COZZARELLI N.R.
Contacts between DNA gyrase and its binding site on DNA: Features of symmetry and
asymmetry revealed by protection from nucleases.
Proc.Natl.Acad.Sci., (USA), 1981,78(3),1416-1420.
- 78 - NAKAMURA S., NAKAMURA M., KOJIMA T., YOSHIDA H.
GyrA and *GyrB* mutations in quinolone-resistant strains of *Escherichia coli*.
Antimicrob.Agents Chemother., 1989,33(2),254-255.
- 79 - NALIN D.R.
Bacterial resistance to Norfloxacin and other newer quinolones, pattern and prospects.
Eur.J.Cancer.Clin.Oncol., 1988,24 (Suppl. 1),S 55-S 61.
- 80 - NARITA H., KONISHI Y., NIRRA J., MISUMI S., NAGAKI H., NAGAI
Y., WATANABE Y., MATSUBARA N., MISAMI S., SAIKAWA I.
Novel 4-Oxo-1,4-dihydronicotinic acid derivatives, salts thereof and antibacterial
agents containing the same.
1983,UK Patent GB 2130580B.
- 81 - NARITA H., KONISHI Y., NITTA J., NAGAKI H., KITAYAMA I.,
WATANABE Y., SAIKAWA I.
Pyridonecarboxylic acid as antibacterial agents. I. Synthesis and structure-activity
relationship of 1-aryl-6-(4-dimethylaminophenyl)-4-pyridone-3-carboxylic acids.
Yakugaku Zasshi, 1986,106(9),775-781.
- 82 - NARITA H., KONISHI Y., NITTA J., KOBAYASHI Y., WATANABE Y.,
MINAMI S., SAIKAWA I.
Pyridonecarboxylic acid as antibacterial agents. II. Synthesis and structure-activity
relationship of 1-(hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic acids.
Yakugaku Zasshi, 1986,106(9),782-787.
- 83 - NARITA H., KONISHI Y., NITTA J., MIYAZIMA M., WATANABE Y.,
YOTSUJI A., SAIKAWA I.
Pyridonecarboxylic acid as antibacterial agents. III. Synthesis and structure-activity
relationship of 1-(4-fluorophenyl)- and 1-(2,4-difluorophenyl)- 6-substituted-4-
pyridone-3-carboxylic acids.
Yakugaku Zasshi, 1986,106(9),788-794.
- 84 - NIENET L., BENAZET F., CHARPENTIE Y., DUBOST M., FLORENT J.,
MANCY D., PREND'HOMME J., THRELFALL T.L., VUILLEMIN B., WRIGHT
D.E., ABRAHAM A., CARTIER M., DECHEZELLES N., GODARD C.,
THEILLEUX J.
La clorobiocine(18,632 R.P.), nouvel antibiotique chloré produit par plusieurs
espèces de *Streptomyces*.
C.R.Acad.Sci. Ser.C, 1972,275,455-458.

- 85 - NIKAIDO H.
Bacterial resistance to antibiotics as a function of outer membrane permeability.
J.Antimicrob.Chemother., 1988,22(Suppl. A),17-23.
- 86 - OKUMURA K., ADACHI T., TOMIE M., KONDO K., INOUE I.
The use of polyphosphoric ester and polyphosphoric acid in the synthesis of 1,4-dihydro-4-oxoquinolines.
J.Chem.Soc.Perkin I, 1972,173-177.
- 87 - OSHEROFF N.
Biochemical basis for the interactions of type I and type II topoisomerases with DNA.
Pharmac.Ther., 1989,41,223-241.
- 88 - OTTER R., COZZARELLI N.R.
Escherichia coli DNA gyrase.
Methods in Enzymology, 1983,100,171-180.
- 89 - PALU G., VALISENA S., PERACCHI M., PALUMBO M.
Do quinolones bind to DNA?
Biochem.Pharmacol., 1988,37(9),1887-1888.
- 90 - PATON J.H., REEVES D.S.
Fluoroquinolones antibiotics: Microbiology, pharmacokinetics and clinical use.
Drugs, 1988,36(2),193-228.
- 91 - PHILLIPS I., KING A.
Comparative activity of the 4-quinolones.
Rev.Infect.Dis., 1988,10(Suppl. 1),S70-S76.
- 92 - POMMIER Y., COVEY J.M., KERRIGAN D., MARKOVITS J., PHAM R.
DNA unwinding and inhibition of mouse leukemia L1210 DNA topoisomerase I by intercalators.
Nucl.Acids.Res., 1987,15(16),6713-6731.
- 93 - PRICE C.C., ROBERTS R.M.
Synthesis of 4-hydroxyquinolines. IV. A modified preparation through bis-(m-chlorophenyl)-formamidine.
J.Am.Chem.Soc. 1946,68,1255-1256.
- 94 - RADL S., HOUSKOVA V., ZIKAN V.
Příprava některých nekonenzovaných derivátů 1,4-dihydro-4-oxo-3-pyridin- A 3-pyridazinkarboxylové kyseliny jako potenciálních antimikrobiálních účinných látek.
Cesk.Farma., 1988,37(2),71-75.
- 95 - RAU D.C., GELLERT M., THOMA F., MAXWELL A.
Structure of DNA gyrase-DNA complex as revealed by transient electric dichroism.
J.Mol.Biol., 1987,193(3),555-569.
- 96- REECE R.J., MAXWELL A.
DNA gyrase: Structure and function.
Critical Rev.Biochem.Mol.Biol., 1991,26(3/4),335-375.
- 97- REYNOLDS G. A., HAUSER C. R.
Ethyl β -anilinoacrylate.
Organic Synthesis Coll. Vol III,374-375.

- 98 - ROBAUX H.
Contribution à l'étude du mécanisme d'action des quinolones: Implication de métaux (Mg^{+2} , cu^{+2}) dans la formation de chélates avec une base purique ou la tyrosine et dans l'interaction avec les topoisomères.
Thèse de 3ème cycle, 1990, Nancy.
- 99 - ROSE K.M.
DNA topoisomerase as targets for chemotherapy.
FASEB J., 1988,2(9),2474-2478.
- 100- RYAN M.J.
Coumermycin, A1: a preferential inhibitor of replicative DNA synthesis in *Escherichia coli*. I. *In vivo* characterization.
Biochemistry, 1976,15(17),3769-3777.
- 101- SATO K., INOUE Y., FUJII T., AOYAMA H., MITSUHASHI S.
Antibacterial activity of Ofloxacin and its mode of action.
Infection, 1986,14(Suppl. 4),S 226-S 230.
- 102- SCHLOSSER-LAFFARGNE F., LALANDE P.
Les nouvelles quinolones (2ème partie).
Dossier du C.N.I.M.H., 1987,VIII(2), 43-81.
- 103- SHEN L.L.
A reply: "Do quinolones bind DNA?".-Yes.
Biochem.Pharmacol., 1989,38(12),2042-2044.
- 104- SHEN L.L., PERNET A.G.
Mechanism of inhibition of DNA gyrase by analogues of nalidixic acid: The target of the drugs is DNA.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA., 1985,82(2),307-311.
- 105- SHEN L.L., BARANOWSKI J., PERNET A.G.
Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: Specificity and cooperativity of drug binding to DNA.
Biochemistry, 1989,28,3879-3885.
- 106- SHEN L.L., MITSCHER L.A., SHARMA P.N., O'DONNELL T.J., CHU D.W.T., COOPER C.S., ROSENT T., PERNET A.G.
Mechanism of inhibition of DNA by quinolones antibacterials: A cooperative drug-DNA binding model.
Biochemistry, 1989,28,3886-3894.
- 107- SMITH J.T.
Wirkmechanismus der chinolone.
Infection, 1986,14(Suppl.1),3-15.
- 108- SMITH J.T.
The mode of action of 4-quinolones and possible mechanisms of resistance.
J.Antimicrob.Chemother., 1986,18(D),21-29.
- 109- SMITH J.T., LEVIN C.S.
Chemistry and mechanisms of action of the quinolone antibacterial.(p. 23-74)
In: The quinolones. ANDRIOLE V.T., Edit. Academic press, 1988, London.

- 110- SNYDER H.R., JONES R.E.
Synthesis of 4-hydroxyquinolines. III. A direct synthesis of β -substituted acrylic esters.
J.Am.Chem.Soc., 1946, **68**, 1253-1255.
- 111- SOLEIL J., LOPPINET V.
Sur les esters acétylacétiques des alcools acycliques.
Chim.Thér., 1966, **5-6**, 309-313.
- 112- SOLEIL J., LOPPINET V.
Sur les isonicotinoylhydrazidones des esters acétylacétiques des alcools acycliques.
Chim.Thér., 1968, **2**, 136-140.
- 113- STAUDENBAUER W.L., ORR E.
DNA gyrase: Affinity chromatography on novobiocin-sepharose and catalytic properties.
Nucl.Acids Res., 1981, **9**, 3589-3603.
- 114- STREHLKE P.
Untersuchungen über die antibakterielle aktivität von chinoloncarbonsäuren. VIII (1).
Eur.J.Med.Chem., (Chimica therapeutica), 1977, **6(12)**, 541-547.
- 115- SUGINO A., HIGGINS N.P., COZZARELLI N.R.
DNA gyrase subunit stoichiometry and the covalent attachment of subunit A to DNA during DNA cleavage.
Nuc.Acids Res., 1980, **8(17)**, 3865-3874.
- 116- SUGINO A., PEEBLES C.L., KREUZER K., COZZARELLI N.R.
Mechanism of action of nalidixic acid: purification of *Escherichia coli* *nalA* gene product and its relationship to DNA gyrase and a novel nicking-closing.
Proc.Natl.Acad.Sci., (USA), 1977, **74(11)**, 4767-4771.
- 117- SUTCLIFFE J.A., GOOTZ T.D., BARMETT J.F.
Biochemical characteristics and physiological significance of major DNA topoisomerases.
Antimicrob.Agents Chemother., 1989, **33(12)**, 2027-2033.
- 118- SWANBERG S.L., ANDWANG J.C.
Cloning and sequencing of the *E.coli* *gyrA* gene coding for the A subunit of DNA gyrase.
J.Mol.Biol., 1987, **197(4)**, 729-736.
- 119- TABARY X., MOREAU N., DUREUIL C., LE GOFFIC F.
Effect of DNA gyrase inhibitors Pefloxacin, five other quinolones, Novobiocin and Chlorobiocin on *Escherichia coli*. topoisomerase I.
Antimicrob.Agents Chemother., 1987, **31(12)**, 1925-1928.
- 120- VORS J.P.
A novel approach to the pyrido(4,3-c)pyridazine ring. Synthesis of pyrido(4,3-c)pyridazin-5(6H)-one from 3,4-disubstituted pyridazines.
J.Heterocyclic Chem., 1991, **28**, 1043-1046.
- 121- WALKER G.C.
Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*.
Microbiol.Rev., 1984, **48**, 60-93.

- 122- WALKER G.C.
Inducible DNA repair systems.
Annal.Rev.Biochem., 1985,**54**,425-457.
- 123- WANG J.C.
Recent studies of DNA topoisomerases.
Biochim.Biophys.Acta., 1987,**909**(1),1-9.
- 124- WATSON J.D., CRICK F.H.C.
Genetical implications of the structure of desoxyribose nucleic acid.
Nature, 1953,**171**,964-967.
- 125- WEISSER J., WIEDEMANN B.
Elimination of plasmids by Enoxacin and Ofloxacin at near inhibitory concentrations.
J.Antimicrob.Chemother., 1986,**18**(5),575-583.
- 126- WEISSER J., WIEDEMANN B.
Inhibition of R-plasmid transfer in *Escherichia coli* by 4-quinolones.
Antimicrob.Agents Chemother., 1987,**31**(4),531-534.
- 127- WESTERHOFF H.V., O'DEA M.H., MAXWELL A., GELLERT M.
DNA supercoiling by DNA gyrase : A static head analysis.
Cell.Biophys., 1988,**12**,157-181.
- 128- WOLFSON J.S., HOOPER D.C.
Norfloxacin: A new targeted fluoroquinolone antimicrobial agent.
Annals Int.Med., 1988,**108**(2),238-251.
- 129- WOLFSON J.S., HOOPER D.C.
The fluoroquinolones: Structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity *in vitro*.
Antimicrob.Agents.Chemother., 1985,**28**(4),581-586.
- 130- WOLFSON J.S., HOOPER D.C.
Fluoroquinolone antimicrobial agents.
Clin Microbiol Rev, 1989,**2**(4),378-424.
- 131- WYCKOFF E., NATALIE D., NOLAN J.M., LEE M., HSIEH T.S.
Structure of the drosophila DNA topoisomerase II gene. Nucleotide sequence and homology among topoisomerases II.
J.Mol.Biol., 1989,**205**,1-13.
- 132- YOSHIDA H., KOJIMA T., YAMAGISHI J., NAKAMURA S.
Quinolone-resistant mutations in the *gyrA* gene of *Escherichia coli*.
Mol.Gen.Genet., 1988,**211**(1),1-7.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I, mention Chimie Thérapeutique

présenté par : Mr Hassan BAYRAKDAR

SUJET : SYNTHÈSE ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE (spectre antibactérien. Inhibition de l'ADN GYRASE) D'ANALOGUES OUVERTS ET MONOCYCLIQUES DES QUINOLONES.

Date de soutenance : 29 octobre 1992

JURY : Président : V. LOPPINET, Professeur (Faculté de Pharmacie-Nancy I)

Juges : Cl. SELVE, Professeur (Faculté des Sciences-Nancy I)

J. SCHWARTZBROD, Professeur (Faculté de Pharmacie-Nancy I)

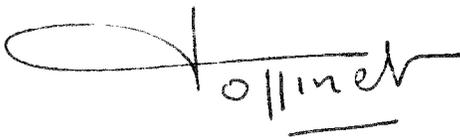
Rapporteurs : N. MOREAU, Directeur de Recherche (C.E.R.C.O.A-Paris)

A. HAEMERS, Professeur (Universitaire Instelling Antwerpen-Belgique)

Vu et approuvé,

Nancy, le 6 octobre 1992

Le Président de Jury de Thèse,



V. LOPPINET

Vu et approuvé,

Nancy, le 9 octobre 1992

Le Responsable du Groupe de Formation
Doctorale "Biologie-Médicament",



G. SIEST

Vu et approuvé,

Nancy, le

Le Doyen de la Faculté,



C. VIGNERON

Vu et approuvé,

Nancy, le 16 OCT. 1992 n°461

Le Président de l'Université
de Nancy I



RESUME

L'inhibition de l'activité ADN gyrase (cible enzymatique commune à toutes les bactéries) constitue un des axes de recherche les plus prometteurs en antibiothérapie. L'objectif de ce travail a concerné la synthèse et la détermination des activités biologiques d'archétypes originaux inhibiteurs de cette enzyme. La première partie de ce mémoire présente l'état actuel des connaissances sur l'ADN gyrase : structure tétramérique, rôle de chaque sous-unité A et B et ses inhibiteurs de type coumarinique (Novobiocine,...) ou non (Amsacrine) ainsi que ceux de structure oxacine (quinolones). La pharmacochimie, les relations Structures-Activités biologiques et le spectre antibactérien de quinolones actuellement introduites sur le marché ou en cours de développement sont analysés en fonction de la prospective de recherche. Dans une deuxième partie, l'étude chimique des acides 1,4-dihydropyridone-3-carboxyliques et de leurs analogues ouverts comprend la synthèse de 8 séries différentes (113 composés) procédant d'une construction progressive et logique au départ de la structure 3-aminoprop-2-énoïque. Toutes ces structures sont conçues afin d'optimiser une activité antibactérienne potentiellement inscrite tant, dans la géométrie moléculaire superposable au modèle oxacine (distances interatomiques, angles de valence,..., définis par modélisation moléculaire) que dans la présence d'enchaînements pharmacophores antibactériens (structure : ester β -cétonique, ènaminoacétate, noyau dihydropyridone-3-carboxylique,.....). L'activité antibactérienne des 113 composés obtenus a été objectivée : d'une part, par la mesure de l'activité inhibitrice (CI_{100}, CI_0) à l'égard de l'ADN gyrase, d'autre part, par le spectre antibactérien défini à partir de la mesure de la concentration minimum inhibitrice (CMI) à l'égard d'une batterie de 4 germes à Gram-positif et 4 germes à Gram-négatif. Les composés les plus intéressants ($CI_{100}: 30 \text{ mg/l}$; $CMI_{\text{Gram}^+}: 16 - 94 \text{ mg/l}$) sont de structure monocyclique et notamment les dérivés 6-N,N-diméthylaminovinylés.

MOTS CLEFS

ADN gyrase; inhibiteurs; antibactériens; quinolones; pyridone-3-carboxylique; CI_{100} ; CI_0 ; géométrie moléculaire; 2-ènaminoacétate.