

Article original

Synthèse et activité anti-bactérienne d'acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-*b*]pyridine carboxyliques-5 II

Jacques BOMPART¹, Louis GIRAL¹, Gilles MALICORNE¹ et Marc PUYGRENIER²

¹Laboratoire de Chimie Organique Structurale, U.S.T.L., Pl. E.-Bataillon, 34060 Montpellier Cédex, et

²Sanofi Recherches, av. Professeur-Blayac, 34082 Montpellier Cédex, France

(Reçu le 22 mai 1987, accepté le 28 juillet 1987)

Résumé — Les auteurs décrivent la synthèse d'une série d'acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-*b*]pyridine carboxyliques-5 originaux différemment substitués en position 2. L'activité anti-bactérienne a été évaluée et a été trouvée équivalente à celle de l'acide nalidixique pour certains dérivés.

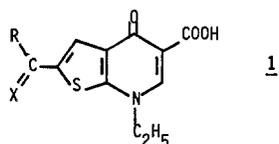
Summary — **Synthesis and anti-bacterial activity of 4,7-dihydro-7-ethyl-4-oxothieno[2,3-*b*]pyridine 5-carboxylic acids.** The synthesis of some new 4,7-dihydro-7-ethyl-4-oxothieno[2,3-*b*]pyridine 5-carboxylic acids with various substituents on position 2 is described. The evaluation of the anti-bacterial activity of some compounds shows an activity equivalent to that of nalidixic acid.

thieno[2,3-*b*]pyridines / anti-bacterial activity

Introduction

Dans un précédent mémoire [1] nous avons décrit la synthèse et reporté l'activité anti-bactérienne d'un certain nombre d'acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-*b*]pyridine carboxylique-5 **1** de la famille des quinolones.

Parmi ceux-ci, deux présentaient des activités anti-bactériennes intéressantes proches de celles montrées par l'acide nalidixique. Il s'agissait de l'oxime (R = H, X = N—OH) et de la base de Schiff (R = H, X = N—C₆H₅). Ne possédant pas assez d'éléments pour tenter d'utiliser les relations structure—activité, nous avons poursuivi l'étude de ces composés en préparant de nouveaux produits originaux pour lesquels X et R ont la signification reportée dans le Tableau I.



La sélection des substituants X pouvait être effectuée selon deux axes, d'une part, choix des groupements qui ne pouvaient que modifier les caractéristiques physico-chimiques globales de la molécule, telles que la lipophilie ou l'encombrement stérique, avec des groupements tels que les chaînes aliphatiques non-fonctionnalisées, d'autre part, choix des substituants qui tout en modifiant ces caractéristiques physicochimiques étaient porteurs de groupements fonctionnels, de façon à modifier les interactions

de cette partie de la molécule avec des acides aminés présents dans le système enzymatique du site récepteur.

Cette étude de recherche des interactions d'une substance avec le récepteur dont la structure et la conformation sont connues a été particulièrement mise en évidence par C. R. Beddel et collègues [2, 3]. Ces auteurs envisagent le récepteur comme une macromolécule avec laquelle un certain nombre de composés peuvent interagir et modifier ainsi les aspects pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des actions biologiques de ces substances.

Dans le cas des quinolones, il semble à peu près établi que celles-ci agissent au niveau de l'ADN gyrase [4]. Cette enzyme a été isolée et purifiée chez *E. coli*, son fonctionnement commence à être connu.

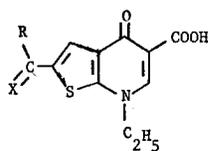
Les réactions catalysées par l'ADN gyrase [4] sont: 1) création de supertours négatifs dans l'ADN (cette réaction exige de l'ATP); 2) relachement de l'ADN sur-enroulé, en l'absence d'ATP; 3) coupure de doubles brins; 4) hydrolyse de l'ATP; 5) formation d'un complexe ADN/gyrase avec surenroulement positif de l'ADN.

Comme elle intervient également dans la transcription de l'ADN et dans sa recombinaison, on comprend l'importance que vont avoir les antibiotiques agissant sur cette enzyme.

En intervenant au niveau de l'ADN gyrase, les quinolones sont des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ADN, et en créant un déséquilibre entre la synthèse de l'ADN et celle des protéines elles provoquent un arrêt de la division cellulaire [4] mais il y a poursuite de la croissance donc filamentation et mort des bactéries.

Ces études sont récentes et incomplètes, la nature intime

Tableau I. Caractéristiques physicochimiques des différents acides dihydro-4,7 éthy-7 oxo-4 thiéno[2,3-b]pyridine carboxyliques-51.



N°	R	X	Formules brutes	Pf°C	Solvant de cristallisation	Bandes caractéristiques IR (KBr) cm ⁻¹
1a	H	N-OCH ₃	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	244 - 245	EtOH	1730 - 1600 - 1480
1b	H	N-O-C ₂ H ₅	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	210 - 215	DMF	1720 - 1600 - 1490
1c	H	N-O-CH(CH ₃) ₂	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	260 - 262	DMF-EtOH	1720 - 1600 - 1490
1d	H	N-O-C(CH ₃) ₃	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	223 - 224	EtOH	1720 - 1610 - 1500
1e	H	N-O-CH ₂ -CH=CH ₂	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	242 - 245	DMF	1730 - 1600 - 1500
1f	H	N-O-CH ₂ -COOH	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₆ S	249 - 250	DMF	1740 - 1720 - 1680 - 1600 - 1500
1g	H	N-O-C(CH ₃) ₂ COOH	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₆ S	218 - 221	DMF	1720 - 1600 - 1500
1h	H	N-O-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	C ₁₆ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	259 - 261	DMF	1720 - 1600 - 1490
1i	CH ₃	N-OH	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	268 - 270	DMF	1710 - 1600 - 1480
1j	C ₂ H ₅	N-OH	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	238 - 240	DMF	1690 - 1590 - 1450
1k	CH ₃	N-OCH ₃	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	> 310	DMF	1710 - 1600 - 1480 - 1440
1l	C ₂ H ₅	N-OCH ₃	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	> 310	DMF	1720 - 1600 - 1480 - 1430
1m	H	N-CH ₂ -CH ₂ -OH	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	240 - 245	DMF-EtOH	1700 - 1600 - 1500
1n	H	N-C ₆ H ₄ 2OH	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	320 - 322	DMF	1720 - 1600 - 1500
1o	H	N-C ₆ H ₄ 4OCH ₃	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	301 - 303	DMF	1710 - 1600 - 1500
1p	H	N-C ₆ H ₂ 3,4,5 OCH ₃	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₆ S	> 310	DMF	1710 - 1590 - 1570 - 1470 - 1150
1q	H	N-C ₆ H ₄ 4OH	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	> 310	DMF	1670 - 1590 - 1490 - 1370 - 1230
1r	H	N-C ₆ H ₄ 4OC ₂ H ₅	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	> 310	DMF	1680 - 1590 - 1470 - 1230
1s	H	N-C ₆ H ₄ 2OCH ₃	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	> 310	DMF	1700 - 1580 - 1470 - 1230
1t	H	N-C ₆ H ₄ 2SH	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S ₂	274 - 275	DMF	1700 - 1590 - 1450 - 1230
1u	H	N-C ₆ H ₃ 2CH ₃ , 3Cl	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₂ O ₃ S	> 310	DMF	1690 - 1600 - 1590 - 1490
1v	H	N-NH ₂	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	> 310	DMF	1730 - 1630 - 1500
1w	H	N-NH-COOCH ₃	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₅ S	> 310	DMF	1720 - 1670 - 1600 - 1500
1x	H	N-NH-N ^{>} NH NH ₂	C ₁₁ H ₁₃ N ₆ O ₃ S	305 - 307	DMF	1680 - 1620 - 1500
1y	CH ₃	O	C ₁₂ H ₁₁ NO ₄ S	280 - 283	EtOH	1690 - 1645 - 1590 - 1510 - 1470
1z	C ₂ H ₅	O	C ₁₃ H ₁₃ NO ₄ S	242 - 244	EtOH	1705 - 1650 - 1590 - 1480 - 1200
1aa	H	N(→O)CH ₃	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	297 - 298	DMF-EtOH	1700 - 1610 - 1500

du site des quinolones est mal connue. De ce fait, il est impossible d'avoir une idée des modifications structurales à apporter, *a priori*, pour essayer de favoriser la liaison de celles-ci au site récepteur. N'ayant donc pas assez d'éléments pour sélectionner les substituants à partir des différentes voies que nous avons évoquées, nous nous sommes contentés d'effectuer des analogies avec des familles d'antibactériens qui possédaient l'enchaînement $-\text{C}=\text{X}$.



Chimie

Les acides **1** sont obtenus par condensation du dérivé carbonylé avec une amine par chauffage à 50°C dans une solution hydro-alcoolique de soude (Schéma 1).

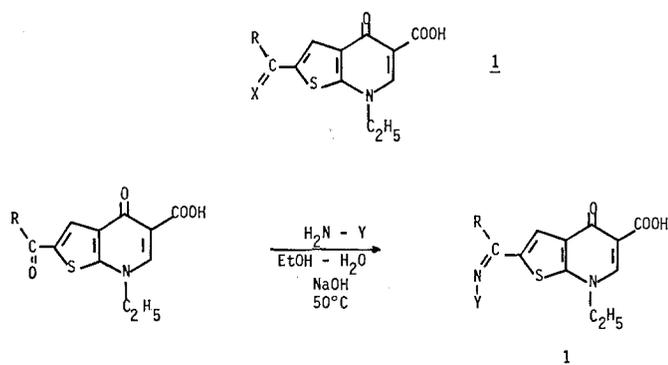


Schéma 1.

Les dérivés carbonylés ont été préparés de deux manières suivant que R = H ou que R est un groupement alkyle.

Dans le cas où R = H nous avons procédé comme déjà décrit [1], l'hydrolyse basique de la fonction ester est effectuée après protection de la fonction aldéhyde sous forme d'imine aromatique.

Dans le cas où R est un groupement alkyle nous avons procédé comme indiqué dans le Schéma 2. Le dérivé **2** [1] est traité par l'anhydride d'acide adéquat en présence de trichlorure d'aluminium. La cyclisation est effectuée dans l'acide polyphosphorique chauffé à 110°C pendant 30 min. L'hydrolyse de la fonction ester est menée dans la soude éthanolique.

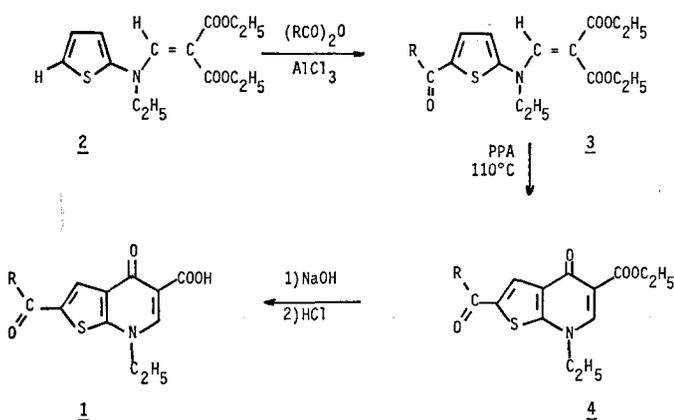


Schéma 2.

La plupart des amines nécessaires lors de l'étape de condensation ont été synthétisées selon la méthode décrite par A. Rougny et M. Daudon [5]. Ces auteurs préconisent l'utilisation du *N*-hydroxyphthalimide comme précurseur pour obtenir des hydroxylamines *O*-substituées. Le *N*-hydroxyphthalimide (Schéma 3) est alkylé dans l'acétonitrile par action d'un dérivé halogéné en présence de triéthylamine [5]. Les dérivés **5** sont traités par l'hydrate d'hydrazine dans une solution éthanolique portée au reflux. Au cours de cette réaction d'hydrazinolyse, le phthalhydrazide formé précipite du mélange réactionnel et peut être éliminé par filtration. On est alors en présence d'hydroxylamine *O*-alkylée en solution alcoolique qui peut être condensée *in situ* avec le dérivé carbonylé. Dans notre cas, nous avons opéré de cette manière sans isoler et caractériser ces hydroxylamines *O*-substituées.

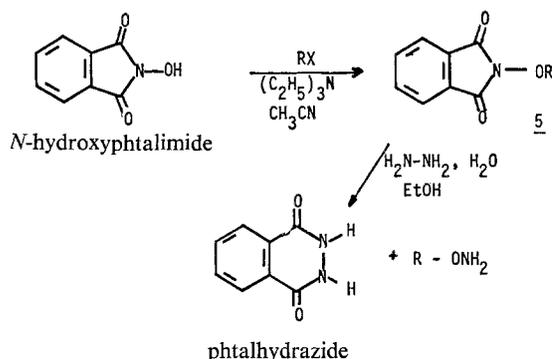


Schéma 3.

Les résultats et caractéristiques des différentes molécules originales sont reportés dans les Tableaux I—V.

Résultats et Discussion

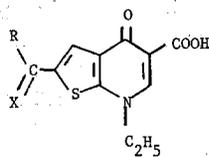
L'évaluation de l'activité anti-bactérienne *in vitro* des acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-*b*]pyridine carboxylique-5 **1** a été faite par une détermination de concentration minimale inhibitrice (*CMi*) en milieu solide vis-à-vis d'une vingtaine de souches bactériennes couvrant un grand nombre d'espèces.

Cette évaluation a été réalisée par rapport à trois produits de référence, il s'agit: de la fluméquine (FLU), de l'acide oxolinique (OXO), et de l'acide nalidixique (NAL). Les *CMi* en $\mu\text{g/ml}$ de ces différents composés sont regroupées dans le Tableau VI.

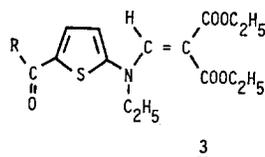
En premier lieu l'examen de ce tableau nous montre que l'imine aliphatique **1m**, les dérivés **1v** à **1x** et la nitrone **1aa** sont inactifs (*CMi* > 50 $\mu\text{g/ml}$).

Pour les dérivés de la série des éthers d'oximes **1a—1h** plusieurs commentaires peuvent être faits: 1) Le dérivé **1a** est le plus actif de la série des dérivés étudiés, il est plus actif que le dérivé oxime, étudié dans le précédent mémoire [1], et que l'acide nalidixique (NAL) contre la plupart des microorganismes étudiés. 2) Dans cette série, **1a—1h**,

Tableau II. Déplacements chimiques en ppm des signaux des hydrogènes des acides 1 en solution dans DMSO-d₆ (appareil Bruker CW 80).

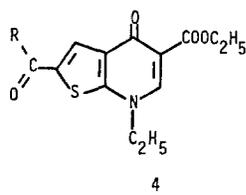


N°	isomère	N - C ₂ H ₅		H ₃ (s)	H ₆ (s)	R - C = X	
		CH ₃ (t)	CH ₂ (q)			R	X
1a	anti syn	1,5 1,5	4,4 4,4	7,8 7,9	9,0 9,1	8,6 8,0	4,0 (s) 4,2 (s)
1b	anti syn	1,5 1,5	4,4 4,4	7,8 8,0	9,0 9,1	8,6 8,1	1,3 (t) 4,2 (q) 1,3 (t) 4,2 (q)
1c	anti syn	1,4 1,4	4,4 4,4	7,8 7,9	8,9 8,9	8,5 8,1	1,4 (d) 4,4 (m) 1,4 (d) 4,4 (m)
1d	anti syn	1,5 1,5	4,5 4,5	7,8 8,0	9,0 9,05	8,5 8,2	1,5 (s) 1,6 (s)
1e	anti	1,5	4,5	7,9	8,9	8,7	6,0 (m) 5,4 (m) 4,7 (d)
1f	anti	1,5	4,4	7,8	8,7	8,5	4,8 (s)
1g	anti	1,4	4,4	7,9	9,0	8,7	1,5 (s)
1h	anti	1,5	4,4	7,8	8,9	8,6	4,2 (m) 3,2 (m) 2,8 (s)
1i	anti	1,4	4,25	7,8	8,7	2,6 (s)	11,6 (s)
1j	anti syn	1,5 1,5	4,5 4,5	7,8 7,9	8,9 9,0	2,8 (q) 1,2 (t) 2,8 (q) 1,2 (t)	11,7 (s) 11,7 (s)
1k	anti syn	1,5 1,5	4,4 4,4	7,9 8,0	8,9 9,0	2,30 2,35	3,95 (s) 4,05 (s)
1l	anti syn	1,5 1,5	4,5 4,5	7,9 8,0	9,0 8,95	1,1 (t) 3,2 (q) 1,1 (t) 3,2 (q)	3,95 (s) 4,05 (s)
1m	anti	1,5	4,4	8,0	9,0	8,7	3,7 (s)
1n	anti	1,5	4,4	8,0	8,9	8,8	7,0 (m)
1o	anti	1,5	4,5	8,1	9,0	9,0	7,2 (d dédoublé) 3,3 (s)
1p	anti	1,5	4,5	7,9	9,0	8,6	6,7 (s) 3,85 (s) 3,7 (s)
1q	anti	1,5	4,5	8,0	8,95	8,95	7,1 (d dédoublé)
1r	anti	1,5	4,5	8,10	9,0	9,0	7,1 (d dédoublé) 1,3 (t) 4,1 (q)
1s	anti	1,5	4,5	8,1	9,0	8,95	7,1 (m) 3,9 (s)
1t	anti	1,5	4,4	8,0	8,9	8,8	7,1 (m)
1u	anti	1,5	4,5	8,25	9,0	8,9	7,3 (m) 2,3 (s)
1v	anti	1,5	4,4	8,0	9,0	8,6	
1w	anti	1,5	4,4	7,8	8,9	8,3	3,7 (s)
1x	anti	1,5	4,4	7,8	8,9	8,6	
1y		1,5	4,5	8,5	9,1	2,7 (s)	
1z		1,5	4,5	8,45	9,0	1,1 (t) 3,2 (q)	
1aa	anti	1,5	4,4	8,0	9,0	8,7	3,9 (s)

Tableau III. Rendements, caractéristiques physicochimiques et déplacements chimiques (appareil Brucker CW 80) des signaux des hydrogène dans CDCl_3 des dérivés **3**.

R	Rdt (%)	PF °C	CCM ^a		Déplacements chimiques δ en ppm				
			R_f	éluant	R	thiényle	CH	NC_2H_5	COOC_2H_5
CH_3	35	66—67 (hexane—éther)	0,48	CHCl_3 18 éther 2	2,5 (s)	6,6 et 7,5 (d)	7,7	1,25 (t) 3,75 (q)	1,25 (t) 4,20 (q)
$\text{CH}_2\text{—CH}_3$	40	68—69 (hexane—éther)	0,50	CHCl_3 18 éther 2	1,20 (t) 2,85 (q)	6,65 et 7,5 (d)	7,7	1,25 (t) 3,75 (q)	1,25 (t) 4,20 (q)

^aCCM: chromatographie en couche mince.

Tableau IV. Rendements, caractéristiques physicochimiques et déplacements chimiques des signaux des hydrogènes dans CDCl_3 (appareil Brucker CW 80) des dérivés **4**.

R	Rdt (%)	PF °C (solvant de cristallisation)	CCM		Déplacements chimiques δ en ppm				
			R_f	éluant	H_3	H_6	R	NC_2H_5	COOC_2H_5
CH_3	80	200—203 (EtOH)	0,48	$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ 18 MeOH 2	8,4 (s)	8,2 (s)	2,60 (s)	1,4 (t) 4, 20 (q)	1,62 (t) 4,40 (q)
$\text{CH}_2\text{—CH}_3$	90	180—181 (EtOH)	0,52	$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ 18 MeOH 2	8,15 (s)	8,35 (s)	1,25 (t) 3,0 (q)	1,4 (t) 4,20 (q)	1,60 (t) 4,40 (q)

nous pouvons constater que l'augmentation de la taille du groupement alkyle provoque une chute brutale de l'activité. Ce résultat semble montrer que le facteur encombrement stérique, ou le facteur lipophilie, régit l'activité: quand il augmente, l'activité diminue (dérivés **1b—1e**).

3) L'introduction de fonctions acides en bout de chaîne aliphatique, **1f** et **1g**, conduit à une perte totale d'activité.

4) Le cas du dérivé **1h** est intéressant, car ce dérivé montre des concentrations minima inhibitrices faibles (3,12 et 6,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) contre certains micro-organismes comme *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *P. mirabilis* ou *Klebsiella pneumoniae*.

Ce résultat est en contradiction avec ceux obtenus avec

les dérivés **1b—1e** où l'augmentation de la taille du groupement alkyle provoque une chute d'activité. Il semble donc que l'atome d'azote présent dans cette chaîne aliphatique apporte une amélioration de l'activité, en créant de nouvelles liaisons avec le site récepteur.

Les dérivés cétoniques **1i—1l**, **1y** et **1z** sont totalement inactifs confirmant ainsi l'hypothèse de l'encombrement stérique au niveau du site récepteur.

D'une manière générale les dérivés fonctionnalisés, tels que **1f**, **1g**, **1m**, **1v**, **1w** et **1x**, donneurs de liaisons hydrogène sont inactifs.

Dans le cas des imines aromatiques, deux dérivés **1t**

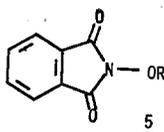


Tableau V. Caractéristiques physicochimiques et déplacements des signaux des hydrogènes en solution dans CDCl_3 (appareil Bruker CW 80) des phthalimides *O*-substitués **5**.

R	Rdt (%)	PF °C	Solvant de recristallisation	CCM		Déplacements chimiques δ (ppm)			
				solvant	R_f	des H du phényle	des H de R		
$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOC}_2\text{H}_5$	33	74—77	éther—hexane	CHCl_3 19 EtOH 1	0,64	7,8 (s)	4,3 (q)	1,6 (s)	1,3 (t)
C_2H_5	75	103—104	EtOH	CHCl_3 12 Ether 8	0,67	7,8 (s)	4,3 (q)	1,5 (t)	
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	40	58—59	éther—hexane	CHCl_3 16 Ether 4	0,86	7,7 (s)	4,8 (m)	1,4 (d)	
$\text{CH}_2=\text{CH}=\text{CH}_2$	50	62	EtOH	CHCl_3 19 EtOH 1	0,84	7,8 (s)	6,0 (m)	5,6 (m)	4,6 (d)
$(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$	35	38	EtOH	CHCl_3 15 MeOH 5	0,25	7,8 (s)	4,2 (t)	2,6 (m)	2,2 (s)
							1,9 (m)		

et **1u** ont des *CMI* supérieures à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ contre la plupart des microorganismes étudiés. Pour les autres dérivés **1n—1s** il y a peu de variation de *CMI* bien que la nature et la position du substituant du cycle benzénique ait été modifiée. Par ailleurs, ces imines sont volumineux ce qui devrait conduire à une activité faible. Ces deux observations nous amènent à penser que ces imines à substituant aromatique sont des *prodrugs* de la fonction aldéhyde. Ces imines pénètrent la cellule procaryote et libèrent la fonction aldéhyde au niveau du site récepteur, ce qui conduit à des *CMI* sensiblement équivalentes, une ou deux dilutions d'écart, quelle que soit la nature du substituant du cycle aromatique (dérivés **1n—1s**).

Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus nous permet de dégager quelques points essentiels. 1) Seul le dérivé **1a** est plus actif que les dérivés précédemment décrits [1]. 2) L'étude des dérivés cétoniques et des éthers d'oxime nous a permis de montrer l'importance de l'encombrement stérique, ou de la lipophilie au niveau du site récepteur. Quand ces facteurs augmentent, l'activité chute rapidement. 3) En ce qui concerne l'étude des imines aromatiques nous pensons que ces dérivés sont des *prodrugs* de la fonction aldéhyde. 4) L'introduction de fonctions pouvant donner des liaisons hydrogène, telles que acide ou amine primaire ou secondaire, conduit à une chute de l'activité.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Indications générales

Les points de fusion, non-correctés, ont été déterminés en capillaire à l'aide de l'appareil du Dr. Tottoli.

Le R_f a été déterminé sur plaque de silicagel Merck 60 F₂₅₄, la révélation étant effectuée à l'aide d'une lampe à rayons ultraviolets ($\lambda = 254 \text{ nm}$); l'éluant étant précisé dans chaque cas.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Perkin—Elmer 457. Les spectres de RMN ont été effectués sur différents appareils mentionnés sur chaque tableau. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés par rapport au tétraméthylsilane pris comme référence interne. Ils sont exprimés en partie par million (ppm). Dans la description des spectres, les symboles suivants ont été utilisés: s pour singulet, d pour doublet, t pour triplet, q pour quadruplet, m pour massif.

Il faut noter dans le cas des imines substituées, la présence de deux isomères dus à la configuration de l'atome d'azote de la fonction imine: l'isomère *syn*, où le doublet électronique de l'atome d'azote est du même côté que l'atome d'hydrogène, et l'isomère *anti* lorsqu'ils sont *trans* par rapport à cette liaison.

Les microanalyses des produits finaux ont été effectuées par le Centre de Microanalyse de Montpellier. Nous ne reportons pas les résultats car ceux-ci étaient pour chaque produit en accord avec sa formule brute.

Synthèse chimique

Préparation des dérivés cétoniques

Préparation des *N*-éthyl *N*-(alkylcarbonyl-5 thiényl-2) aminoéthylène-malonate de diéthyle **3**. Dans un erlenmeyer de 250 cc muni d'un agitateur magnétique, d'un réfrigérant, d'une ampoule à brome, on place 3 g du dérivé **2** (0,01 mol), 150 cc de dichlorométhane et

Tableau VI. CMI en µg/ml des différents thiéno[2,3-*b*]pyridines 1, de la fluméquine (FLU), de l'acide oxolinique (OXO) et de l'acide nalidixique (NAL). > : CMI supérieure à 100 µg/ml.

N°	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1j	1k	1l	1m	1n	1o	1p	1q	1r	1s	1t	1u	1v	1w	1x	1y	1z	1aa	FLU	OXO	NAL	
SOUCHES																															
<i>Staphylococcus Aureus</i> 53154 IP	3,12	100	100	100	100	>	>	6,25	>	>	>	>	100	>	>	>	>	>	>	>	>	100	100	100	>	>	100	1,56	0,8	12,5	
<i>Streptococcus Faecalis</i> 5855 IP	>	>	>	>	100	>	>	100	>	>	>	>	100	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	100	>	50	>	
<i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 6633	0,40	1,56	6,25	1,56	0,8	>	>	6,25	>	>	25	>	50	6,25	6,25	50	50	>	50	50	>	50	50	50	>	50	0,2	0,2	1,56	1,56	
<i>Escherichia Coli</i> 54127 IP	1,56	50	50	50	50	>	>	6,25	>	>	>	>	50	1,56	1,56	12,5	12,5	50	6,25	>	25	50	50	50	25	50	0,2	0,1	1,56	1,56	
<i>Escherichia Coli</i> SOL RL 90	3,12	50	50	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	3,12	3,12	12,5	12,5	50	6,25	>	50	50	50	50	100	>	50	0,8	0,2	3,12	3,12
<i>Citrobacter Freundii</i> GN 346	3,12	50	50	50	50	>	>	12,5	>	>	>	>	50	6,25	6,25	25	12,5	50	12,5	>	100	25	50	50	50	100	0,4	0,2	3,12	3,12	
<i>Proteus Vulgaris</i> RL 99 bis	1,56	50	50	50	50	>	>	12,5	50	>	>	>	50	3,12	1,56	6,25	6,25	6,25	6,25	>	25	3,12	50	50	12,5	50	0,2	0,1	3,12	3,12	
<i>Proteus Mirabilis</i> ATCC 21100	0,40	3,12	50	50	3,12	>	>	3,12	25	>	>	>	50	3,12	6,25	50	100	100	25	>	>	50	50	50	12,5	50	0,1	0,1	1,56	1,56	
<i>Proteus Morganii</i> 1510	0,40	12,5	50	50	50	>	>	25	50	>	>	>	50	6,25	0,80	3,12	1,56	3,12	1,56	>	25	3,12	50	50	6,25	50	0,2	0,1	1,56	1,56	
<i>Providencia Stuartii</i> 5158	6,25	50	100	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	12,5	12,5	100	50	100	50	>	>	100	50	50	100	>	50	0,8	0,2	6,25	6,25
<i>Serratia Liquefaciens</i> 376	50	50	50	50	50	>	>	50	>	>	>	>	50	100	100	>	>	>	>	>	>	50	50	50	>	>	25	3,12	100	100	
<i>Klebsiella Pneumonia</i> ATCC 10031	0,40	1,56	6,25	50	1,56	>	>	3,12	100	>	>	>	50	12,5	12,5	25	25	50	25	>	>	6,25	50	50	12,5	50	0,1	0,05	0,8	0,8	
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> R 30	3,12	50	50	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	12,5	12,5	50	25	50	25	>	>	50	50	50	50	>	50	0,2	0,2	3,12	3,12
<i>Enterobacter Cloacae</i> P 99	1,56	50	50	50	50	>	>	12,5	>	>	>	>	50	6,25	6,25	25	50	100	25	>	>	50	50	50	25	>	50	0,2	0,1	1,56	1,56
<i>Enterobacter Hafniae</i> RO 46	1,56	25	50	50	50	>	>	6,25	>	>	>	>	50	1,56	1,56	3,12	3,12	3,12	3,12	>	25	50	50	50	25	50	0,2	0,1	3,12	3,12	
<i>Shigella Sonnei</i> R 018	1,56	50	50	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	3,12	>	25	50	50	50	25	50	0,2	0,1	1,56	1,56	
<i>Salmonella Typhimurium</i> A 222 IP	6,25	50	50	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	3,12	3,12	25	12,5	50	12,5	>	>	50	50	50	>	50	0,4	0,2	3,12	3,12	
<i>Salmonella Typhi</i> ATCC 6539	6,25	50	50	50	50	>	>	25	>	>	>	>	50	3,12	6,25	25	12,5	100	12,5	>	>	50	50	50	>	50	0,4	0,4	6,25	6,25	
<i>Bordetella Bronchiseptica</i> ATCC 4617	12,5	50	50	50	50	>	>	>	>	>	>	>	50	3,12	6,25	25	12,5	100	12,5	>	>	50	50	50	>	50	6,25	3,12	12,5	12,5	
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> 8203	>	50	50	50	50	>	>	>	>	>	>	>	50	>	>	>	>	>	>	>	>	50	50	50	>	50	25	6,25	25	25	
<i>Acinetobacter Calcoaceticus</i> C 1733	>	50	50	50	50	>	>	>	>	>	>	>	50	>	>	>	>	>	>	>	>	50	50	50	>	50	12,5	25	25	>	

15 g d' AlCl_3 (M: 133,3, 0,112 mol). Le mélange réactionnel est maintenu à 0°C par l'intermédiaire d'un bain de glace. Au mélange on ajoute 0,016 mol de l'anhydride d'acide convenable, l'ajout est effectué goutte à goutte, l'agitation est ensuite maintenue, à 0°C, pendant 5 min. Le mélange réactionnel est coulé sur de la glace pilée. La phase aqueuse est basifiée, pH 9—10, à l'aide d'une solution de soude diluée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (3 fois 50 ml). Les phases organiques sont combinées, séchées sur sulfate de sodium, évaporées à sec sous pression réduite. Le résidu est repris à l'hexane, cette solution est lavée plusieurs fois à l'acide chlorhydrique dilué, lavée ensuite à l'eau puis séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu est repris dans un minimum d'hexane chaud, la solution obtenue est placée à -20°C. Le précipité qui s'est formé est filtré sur verre fritté, séché dans un dessiccateur. On recueille ainsi le produit attendu, les caractéristiques physico-chimiques, les rendements et les déplacements chimiques sont regroupés dans le Tableau III.

Préparation des alkylcarbonyl-2 dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-b]-pyridine carboxylates-5 d'éthyle 4. Dans un erlenmeyer de 50 cc, muni d'une garde à chlorure et d'un agitateur magnétique chauffant, on place 10 cc d'acide polyphosphorique. La solution est chauffée par l'intermédiaire d'un bain d'huile porté à 110°C. Quand l'acide polyphosphorique s'est fluidifié, on ajoute en une seule fois 3 mmol du dérivé 3. L'agitation est maintenue pendant 30 min. Le mélange réactionnel est ensuite coulé sur de la glace pilée, la phase aqueuse est neutralisée par ajout de carbonate de sodium, pH 6—7. Le précipité qui s'est formé est filtré sur verre fritté, lavé à l'eau puis séché dans un dessiccateur. Les caractéristiques physicochimiques, les rendements et les déplacements chimiques des signaux des hydrogènes sont regroupés dans le Tableau IV.

Préparation des acides alkylcarbonyl-[2,3-b] dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno[2,3-b] pyridine carboxyliques-5 1. Dans un erlenmeyer muni d'un agitateur magnétique chauffant on place 1 mmol du dérivé 4 que l'on dissout dans 40 ml d'éthanol 95 par chauffage. Après dissolution, la source chaude est enlevée, après refroidissement à température ambiante on ajoute 7 mmol de NaOH (0,27 g) dissouts dans 20 cc d'eau. La solution est agitée à cette température pendant 30 min. On ajoute ensuite de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à neutralité, la solution obtenue est ensuite placée au réfrigérateur. Le précipité qui s'est formé est filtré sur verre fritté, lavé à l'eau, à l'alcool puis à l'éther et séché dans un dessiccateur, rendement 90%. Les caractéristiques physicochimiques et les déplacements chimiques des signaux des hydrogènes sont regroupés dans les Tableaux I et II.

Condensation des dérivés carbonylés avec les amines

Dans un erlenmeyer muni d'un réfrigérant, d'un agitateur magnétique chauffant et d'une ampoule à brome, on place 0,01 mol du dérivé carbonylé, 100 cc d'un mélange 50—50 éthanol—eau et 0,01 mol de NaOH. A ce mélange chauffé à 50°C on ajoute par l'intermédiaire de l'ampoule à brome 0,01 mol de l'amine dissoute dans le minimum d'alcool. L'agitation est maintenue à 50°C pendant 2 h. Après refroidissement à température ambiante la solution est neutralisée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique diluée puis placée au réfrigérateur. Le précipité formé est filtré sur verre fritté, lavé à l'eau à l'alcool puis à l'éther séché dans un dessiccateur. On recueille ainsi, avec un rendement de 90—95% les dérivés 1 attendus.

Tests pharmacologiques

Protocole

Les CMI ont été déterminées sur milieu gélosé de Mueller—Hinton, pH 7,4, par la méthode des dilutions sériées utilisant un inoculum bactérien de 10^4 unités formant colonies déposé sur milieu gélosé à l'aide d'un ensementeur multiple.

Une gamme de concentrations de 100—0,05 $\mu\text{g/ml}$ a été utilisée en partant de solutions mères titrant à 1000 $\mu\text{g/ml}$ réalisées dans la soude 0,1 N, toutes les dilutions ultérieures ayant été faites dans de l'eau distillée. La lecture est faite après 18 h d'incubation à 37°C: on ne tient pas compte pour cette lecture de la présence d'une à trois colonies.

Références

- 1 Bompard J., Giral L., Malicorne G. & Puygrenier M. (1987) *Eur. J. Med. Chem.* 22, 139—145
- 2 Beddel C. R. (1984) *Chem. Soc. Rev.* 13, 279—319
- 3 Kuyper L. F., Roth B., Bacanari D. P., Ferone R. & Beddel C. R. (1982) *J. Med. Chem.* 25, 1120—1122
- 4 Moreau N. (1985) in: *Actual. Chim. Ther.*, 12^e sér., Edifor, Paris, pp. 239—246
- 5 Rougny A. & Daudon M. (1976) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 5—6, 833—838