

Synthèse et étude de l'activité antimicrobienne de dérivés diversement chlorés du squelette 3-phényloctahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine

S Ménager¹, C Loire¹, O Lafont^{1*}, B Champeyrol²,
C Delabos³, J Garnier³, C Combet Farnoux⁴

¹Laboratoire de Chimie Organique, Groupe de Pharmacochimie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, avenue de l'Université, BP 97, F 76803 Saint-Étienne-du-Rouvray Cedex;

²Laboratoire UVA, 29, rue M Cachin, 94200 Ivry-sur-Seine;

³Laboratoire de Botanique et Cryptogamie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, avenue de l'Université, BP 97, F 76803 Saint-Étienne-du-Rouvray Cedex;

⁴Laboratoire de Chimie Organique, Faculté de Pharmacie de Paris-Sud, Rue JB Clément, 92290 Châtenay-Malabry, France

(Reçu le 24 avril 1990; accepté le 19 juin 1990)

Résumé — Des dérivés diversement chlorés de 3-phényloctahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine sont synthétisés par une double réaction de Mannich entre l'acide 5,5-diéthyl-4-iminobarbiturique, du formaldéhyde et des chlorophénylaminés primaires. Les produits secondaires de la réaction, 1,3,5-triarylhexahydro-*s*-triazines et monoaminométhylpyrimidinediones, sont identifiés et leur mode de formation est discuté; ce qui permet de montrer que l'azote extracyclique subit la première aminométhylation et que la substitution de l'azote intracyclique, qui provoque la fermeture du cycle, se produit dans un second temps. Tous les composés présentent une activité antibactérienne et/ou antifongique. Le composé qui porte un chlore en position 3 sur le noyau se montre aussi actif que le nitrate de miconazole vis-à-vis de *T rubrum* et *E floccosum*.

Summary — **Synthesis and study of antimicrobial activities of variously chlorosubstituted 3-phenyloctahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazines.** These compounds were synthesised, via a double Mannich reaction between 5,5-diethyl-4-iminobarbituric acid, formaldehyde and primary chlorophenylamines. The by-products of the reaction, 1,3,5-triarylhexahydro-*s*-triazines and monoaminomethylpyrimidinediones, were identified and their formation discussed. It was shown that the extracyclic nitrogen atom underwent the first aminomethylation and that the substitution of the intracyclic nitrogen atom, inducing ring closure, took place in a second step. All the compounds exhibited antimicrobial activities against bacteria and/or fungi and the derivative presenting a chlorine atom in the 3-position on the nucleus was as active as miconazole nitrate against *T rubrum* and *E floccosum*.

antibacterial agents / antifungal agents / Mannich reaction / 3-phenyloctahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazines

Les dérivés foliques sont des constituants normaux de la cellule vivante. Ils stimulent notamment la croissance des micro-organismes, c'est pourquoi de nombreux médicaments antimicrobiens agissent comme des antifoliques. C'est le cas des sulfamides qui inhibent la dihydroptéroïque synthétase et, partant la synthèse des dérivés foliques. À un autre niveau de leur biosynthèse interviennent les inhibiteurs de la dihydrofolique réductase (DHFR) qui bloquent le passage des dérivés dihydrogénés aux dérivés tétrahydrogénés. Les dérivés tétrahydrofoliques qui constituent la forme active des acides foliques dans les séquences métaboliques très variées auxquelles ils

participent interviennent en particulier [1, 2] dans la biosynthèse des nucléotides de la thymidine et de tous les nucléotides puriques. Au nombre de ces inhibiteurs de la DHFR se trouvent 3 grandes familles pharmacochimiques, celles du méthotrèxate, de la triméthoprine et du cycloguanile. Cette dernière molécule possède une structure de dihydro-*s*-triazine (schéma 1) qui lui permet de se combiner aux DHFR de micro-organismes, entrant ainsi en compétition

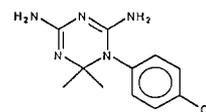


Schéma 1.

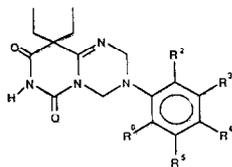
*Correspondance et tirés à part

avec les dérivés dihydroptéroylglutamiques [3, 4]. On peut dès lors envisager que des composés tétrahydrogénés, dont le squelette présente une analogie avec celui des dihydro-*s*-triazines antifoliques, puissent interférer avec les séquences métaboliques dans lesquelles interviennent les acides foliques auxquels ils sont apparentés par leur degré d'hydrogénation.

Si une tentative d'utilisation de dérivés tétrahydrogénés, dans une autre série, celle de la triméthoprime, n'avait pas donné de résultat satisfaisant dans le domaine antiparasitaire [5], des dérivés à noyau pentahydro-*s*-triazine, accolé à une dihydropyrimidinone, avaient manifesté une importante activité antifongique vis-à-vis des champignons pathogènes de végétaux [6], et des dérivés tétrahydrohomofoliques et diazahomofoliques avaient fait preuve d'activités antibactérienne et antitumorale prometteuses [7].

Par ailleurs, dans le cadre de l'étude de l'activité antiparasitaire d'acides iminobarbituriques [8–10], nous avons synthétisé des dérivés du squelette pyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine, dans lequel le noyau triazinique était tétrahydrogéné et nous avons observé des résultats positifs pour certains d'entre-eux, vis-à-vis d'*Hymenolepis nana* var *fraterna*, *Plasmodium berghei* et surtout *Nippostrongylus brasiliensis* [9].

C'est pourquoi a été entreprise une étude de pharmacomodulation dans les domaines antibactérien et antifongique, autour du squelette 9,9-diéthyl-6,8-dioxo-3-phényl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine (nomenclature correspondant à la règle C-316-1) ou 9,9-diéthyl-3-phényl-2*H*, 3*H*, 4*H*, 5*H*, 7*H*, 9*H*-pyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine-6,8-dione (règle C-315), en faisant varier le nombre, la position et la nature des substituants du noyau phényle. Dans un premier temps, c'est l'influence de la présence d'1, 2 ou 3 atomes de chlore sur le cycle aromatique qui a été étudiée (schéma 2).



- 1 : R² = R³ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H
 2 : R² = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H; R³ = Cl
 3 : R² = R³ = R⁵ = R⁶ = H; R⁴ = Cl
 4 : R⁴ = R³ = R⁵ = H; R² = R⁶ = Cl
 5 : R³ = R⁵ = R⁶ = H; R² = R⁴ = Cl
 6 : R⁴ = R⁵ = R⁶ = H; R² = R³ = Cl
 7 : R² = R⁵ = R⁶ = H; R³ = R⁴ = Cl
 8 : R³ = R⁶ = H; R² = R⁴ = R⁵ = Cl
 9 : R³ = R⁵ = H; R² = R⁴ = R⁶ = Cl

Schéma 2.

Chimie

Synthèse

Le squelette octahydropyrimido[3,4-*a*]-*s*-triazine est obtenu par condensation de l'acide 5,5-diéthyl-4-iminobarbiturique avec une aniline chlorée dans la position choisie et deux molécules de formaldéhyde, par une double réaction de Mannich en solution éthanolique [8, 9] (schéma 3).

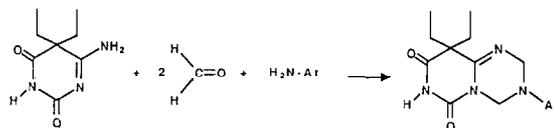


Schéma 3.

Aspect structural

En réalité, l'acide iminobarbiturique se trouve, dans ce solvant protique, dans la forme tautomère majoritaire énamino-cétonique (schéma 4) comme l'a montré une étude électrochimique et spectrographique (IR, UV, ¹H RMN, ¹³C RMN, spectrométrie de masse) [11, 12]. En particulier, ce composé absorbe dans l'ultra violet à 250 nm, alors que les dérivés voisins substitués sur l'azote 3, donc bloqués dans une forme iminique, présentent leur maximum d'absorption vers 230 nm.

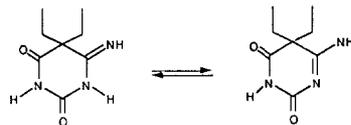


Schéma 4.

C'est toutefois la structure iminobarbiturique qui existe dans les produits bicycliques, puisque la tautométrie est rendue impossible par l'inclusion des deux atomes d'azote concernés dans le cycle tétrahydro-*s*-triazinique.

Étude critique de la réaction

Le déroulement de la réaction est naturellement influencé par des facteurs qui tiennent à la structure des réactifs, tels l'encombrement stérique ou la disponibilité du doublet de l'azote de l'aniline substituée. C'est ainsi que l'introduction d'un groupe nitro, en position *para* sur le noyau benzénique, provoque une diminution du rendement de 97 à 36% (10: Ar = *p*-NO₂-C₆H₄; schéma 3).

La concentration du milieu joue toutefois un rôle considérable puisqu'une simple variation d'un facteur 2 de ce paramètre provoque une chute brutale des rendements.

La durée du chauffage passe, quant à elle, par un optimum, au-delà duquel des réactions secondaires sont favorisées. En particulier, un type de produit, très fréquemment présent dans les milieux réactionnels, provient d'une triple réaction de Mannich de l'amine aromatique primaire sur elle-même; ce qui interdit de tenter d'améliorer le bilan de la réaction en utilisant un excès de l'amine (schéma 5).



Schéma 5.

Un autre type de produit est susceptible de se former en quantité importante. Il s'agit d'un dérivé résultant d'une réaction de Mannich unique qui affecte le seul azote juxtacyclique de l'acide iminobarbiturique de départ (schéma 6).

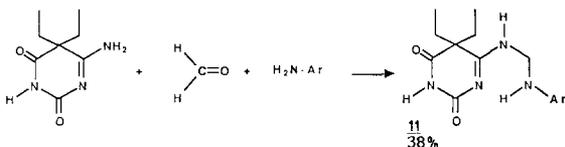


Schéma 6.

Le produit monoaminométhylé **11** est, d'ailleurs, le seul que l'on obtienne lorsqu'on utilise la 2-chloroaniline comme matière première (**11**: Ar = *o*-Cl-C₆H₄; schéma 6).

La persistance d'une structure énamino-cétonique est attestée par le couplage observé en ¹H RMN entre le proton porté par l'azote juxtacyclique et le méthylène situé entre les 2 azotes. En fait, ce sont des mélanges que l'on observe le plus souvent. Cependant, la présence d'un chlore, en position 2, paraît nuire à la cyclisation et lorsque le noyau est dépourvu de substituant, cette réaction secondaire est totalement évitée.

À titre d'exemple, lorsque le noyau porte deux atomes de chlore en position *ortho* et *para*, et si l'on opère en solution diluée, c'est le composé monoaminométhylé, **12**, qui est majoritaire, le dérivé bicyclique, **5**, et l'hexahydro-*s*-triazine **13** sont cependant obtenus en quantité non négligeable (schéma 7).

La première aminométhylation affecte l'azote extracyclique et la deuxième se produit si le milieu est

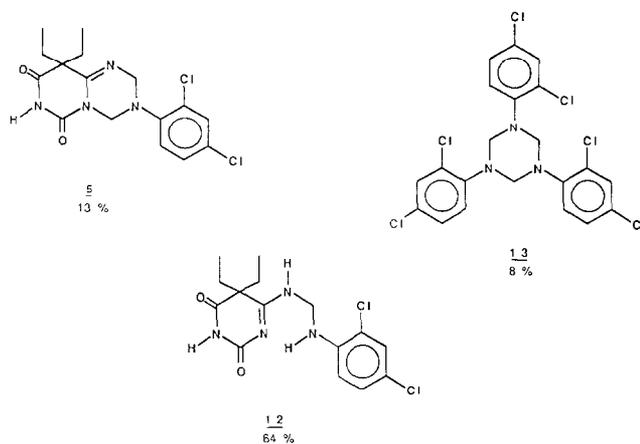


Schéma 7.

assez concentré, ou surtout si le produit bicyclique précipite; ce qui déplace la réaction. En effet, contrairement à ce qui avait été supposé antérieurement [8], lorsqu'on utilise une aniline N-monosubstituée, un seul produit d'aminométhylation **14**, se forme sur l'azote extracyclique (schéma 8).

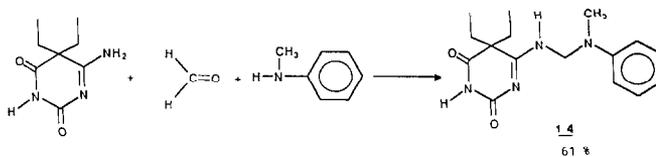


Schéma 8.

Le rôle d'intermédiaire des dérivés monoaminométhylés peut aussi être démontré par la synthèse de **5** à partir de **12**, en solution concentrée (schéma 9).

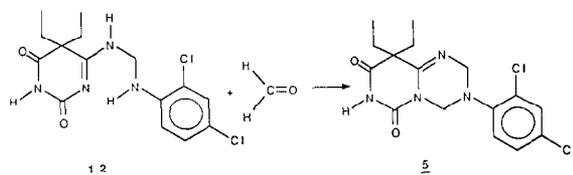


Schéma 9.

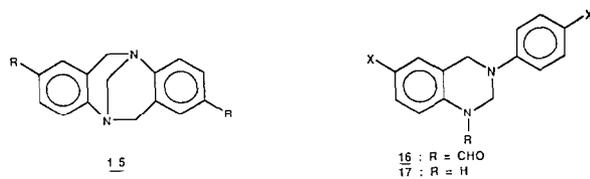


Schéma 10.

En outre, les nombreuses condensations qui se produisent, en milieu acide, entre le formaldéhyde et les amines aromatiques et qui conduisent suivant les cas à une base de Troeger **15** ou à des tétrahydroquinazolines formylées **16** ou non, **17**, [13] (schéma 10) sont ici totalement évitées grâce au pH alcalin du milieu.

Résultats pharmacologiques

Aucun des 9 produits essayés n'a présenté d'activité vis-à-vis d'*Escherichia coli*, quelle que soit la souche, ou de *Klebsiella pneumoniae* provenant de mammites. En revanche, tous ont manifesté une action inhibitrice vis-à-vis d'un et, le plus souvent, de plusieurs micro-organismes. Les CMI exprimées en $\mu\text{g ml}^{-1}$ sont regroupées dans le tableau 1 pour 9 espèces de bactéries et 5 espèces de champignons.

Discussion et conclusion

Cette étude de l'influence de la substitution, par des atomes de chlore, du noyau aromatique de 3-phényl-

octahydropyrimido[3,4-*a*]-s-triazines sur l'activité antimicrobienne a permis de dégager les tendances suivantes.

Lorsque le noyau ne porte pas de substituant, aucune activité ne se manifeste vis-à-vis des bactéries. Il n'en va pas de même pour les champignons, pour lesquels une CMI de 100 à 300 $\mu\text{g ml}^{-1}$ est tout de même observée.

Vis-à-vis des champignons c'est la présence d'un chlore en position *meta* qui conduit aux meilleurs résultats, en particulier sur *Trichophyton* et *Epidermophyton* (CMI = 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$) sur lesquels **2** s'avère aussi actif que le nitrate de miconazole.

En revanche, vis-à-vis des bactéries, c'est la présence de 2 chlores en position *ortho* et *para* qui permet la moins faible activité, notamment sur les bacilles (CMI = 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$).

La trisubstitution du noyau en position 2,4,6, elle, se traduit par une activité modeste sur presque tous les germes.

Il convient de remarquer que le composé **2**, le plus actif sur les champignons l'est également faiblement sur plusieurs bactéries, tandis que le composé **5**, actif sur les bacilles, n'est pas totalement dénué d'activité sur les cryptogames.

Tableau I. CMI (en $\mu\text{g ml}^{-1}$) des différents composés essayés.

| Composé Souche | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | Polymixine | Nitrate de miconazole |
|------------------------------------|-----|-----|---------|---------|-----|-----|---------|-------|--------|------------|--------------------------|
| Bactéries | | | | | | | | | | | |
| <i>B bronchiseptica</i> | – | 400 | > 400 | – | 200 | 400 | – | > 400 | 400 | 1 | |
| <i>S lutea</i> | – | 400 | – | – | – | 400 | 400–200 | – | 400 | 1 | |
| <i>S aureus</i> | – | – | – | – | 200 | – | 200 | – | 400 | 10 | |
| <i>B subtilis</i> | – | 400 | – | – | 100 | – | – | – | 400 | 1 | |
| <i>B cereus</i> | – | 400 | – | – | 50 | – | – | – | 400 | 100 | |
| <i>S uberis</i> | – | – | – | – | – | – | – | – | 400 | 5 | |
| <i>S agalactiae</i> | – | – | – | – | – | – | 400 | – | 400 | 50 | |
| <i>K pneumoniae</i> ATCC 10 031 | – | – | – | – | – | – | 400 | – | – | 1 | |
| <i>P aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | – | 400 | – | – | 1 | |
| Champignons | | | | | | | | | | | |
| <i>C krusei</i> | 300 | 30 | – | 300 | – | * | * | – | 100 | | 1 |
| <i>M gypseum</i> | 100 | 30 | 100–300 | 300 | 300 | * | * | – | 30–100 | | 1 |
| <i>T rubrum</i> | 100 | 1 | 30–100 | 300 | 300 | * | * | – | 100 | | 1 |
| <i>E floccosum</i> | 100 | 1 | 100 | 100–300 | 100 | * | * | – | 100 | | 1 |
| <i>A fumigatus</i> | 300 | 300 | 300 | 300 | 300 | * | * | – | 30–100 | | 1 |

* Produit insuffisamment soluble dans les conditions de l'expérience. – Produit inactif

Ce sont donc des composés monochlorés en 3 ou dichlorés en 2 et 4 qui peuvent être retenus en vue de pharmacomodulations ultérieures.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les spectres de ^1H RMN ont été établis à 60 MHz sur appareil Varian T60 ou à 270 MHz sur appareil Bruker WH 270, avec référence interne TMS. Les microanalyses ont été réalisées sur Perkin-Elmer 240. Les points de fusion non corrigés ont été déterminés sur banc de Kofler. Les résultats des analyses signalés par des symboles d'élément sont compris entre $\pm 0,3\%$ des valeurs théoriques.

Synthèse des 9,9-diéthyl-6,8-dioxo-3-aryl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazines

Dans un réacteur de 250 ml, équipé d'un dispositif d'agitation mécanique, d'une ampoule à brome et d'un réfrigérant, on introduit successivement 0,01 mol (1,83 g) de l'acide 5,5-diéthyl-4-iminobarbiturique préparé selon [14], puis 10 ml d'éthanol absolu. Le corps du réacteur est alors plongé dans la glace, puis 0,02 mol d'aldéhyde formique sous forme d'une solution aqueuse à 35% (1,5 ml) ainsi que 0,01 mol de l'amine aromatique choisie sont ajoutées. Le milieu est alors chauffé au bain-marie à 80°C pendant 30 min à partir du début du reflux.

Après refroidissement, le produit bicyclique précipite. Après passage à travers un filtre de verre fritté, le solide est recueilli puis séché au dessiccateur. La pureté est vérifiée par CCM (support: silice Kieselgel 60F 254 sur feuille d'aluminium, solvant: chloroforme/acétone 75/25 v/v). Le produit est recristallisé, s'il y a lieu.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-phényl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **1**

Rdt % = 97; F°C = 122; Rf = 0,87. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,7 (t, 6H, 2CH₃); 1,95 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 5,1 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,4 (s, 2H, N-CH₂-N); 7,2 (m, 5H, Ar); 8,2 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₂₀N₄O₂. Ce composé avait déjà été obtenu dans [9].

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(3-chlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **2**

Rdt % = 36; F°C = 88; Rf = 0,28. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,7 (t, 6H, 2CH₃); 1,95 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 5,0 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,35 (s, 2H, N-CH₂-N); 6,8 (m, 4H, Ar); 8,5 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₉N₄O₂Cl.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(4-chlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **3**

Rdt % = 38; F°C = 91; Rf = 0,25. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,7 (m, 6H, 2CH₃); 1,85 (m, 4H, 2CH₂ d'Et); 5,1 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,3 (s, 2H, N-CH₂-N); 7,2 (m, 4H, Ar); 8,3 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₉N₄O₂Cl. Ce composé avait déjà été obtenu dans [9].

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(2,6-dichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **4**

Rdt % = 27; F°C = 154; Rf = 0,49. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,8 (m, 6H, 2CH₃); 2,0 (m, 4H, 2CH₂ d'Et); 4,9 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,2 (s, 2H, N-CH₂-N); 7,2 (m, 3H, Ar); 8,6 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₈N₄O₂Cl₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(2,4-dichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **5**

Rdt % = 13; F°C = 155; Rf = 0,51. ^1H RMN, 270 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,6 (t, 6H, 2CH₃); 1,6 (m, 2H, CH₂ d'Et); 2,0 (m, 2H, CH₂ d'Et); 5,3 (m, 2H, N-CH₂-N); 5,45 (m, 2H, N-CH₂-N); 7,1 (m, 3H, Ar); 8,3 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₈N₄O₂Cl₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(2,3-dichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **6**

Rdt % = 28; F°C = 218; Rf = 0,49. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,8 (t, 6H, 2CH₃); 2,0 (m, 4H, 2CH₂ d'Et); 5,0 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,3 (s, 2H, N-CH₂-N); 7,2 (m, 3H, Ar); 8,3 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₈N₄O₂Cl₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(3,4-dichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **7**

Rdt % = 21; F°C = 187; Rf = 0,45. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,8 (t, 6H, 2CH₃); 2,1 (m, 4H, 2CH₂ d'Et); 4,9 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,2 (s, 2H, N-CH₂-N); 7,4 (m, 3H, Ar); 8,3 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₈N₄O₂Cl₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(2,4,5-trichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **8**

Rdt % = 18; F°C = 142; Rf = 0,56. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,8 (t, 6H, 2CH₃); 2,0 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 4,95 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,35 (m, 2H, N-CH₂-N); 7,25 (s, 1H, Ar); 7,6 (s, 1H, Ar); 8,2 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₇N₄Cl₃O₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(2,4,6-trichlorophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **9**

Rdt % = 12; F°C = 138; Rf = 0,50. ^1H RMN, 270 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,7 (t, 6H, 2CH₃); 1,9 (q, 2H, 2CH₂ d'Et); 4,8 (m, 2H, N-CH₂-N); 5,1 (m, 2H, N-CH₂-N); 7,5 (d, 2H, Ar); 8,4 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆H₁₇N₄Cl₃O₂.

9,9-Diéthyl-6,8-dioxo-3-(4-nitrophényl)-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydropyrimido[3,4-a]-s-triazine **10**

Rdt % = 36; F°C = 232 (eau); Rf = 0,63. ^1H RMN, 60 MHz, CDCl_3 , δ ppm = 0,8 (t, 6H, 2CH₃); 1,95 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 5,25 (s, 2H, N-CH₂-N); 5,5 (s, 2H, N-CH₂-N); 6,85 (d, 2H, Ar); 8,1 (d, 2H, Ar); 8,4 (m, 1H, éch D₂O, NH). Anal (C, H, N): C₁₆N₅H₁₉O₄.

Synthèse de **11**

4-(2-Chlorophényl)-aminométhylamino-5,5-diéthyl-2,6-dioxo-1,2,5,6-tétrahydropyrimidine. **11** est préparé en utilisant la méthode décrite plus haut pour les composés **1-10**, en utilisant la 2-chloroaniline comme amine aromatique.

Rdt % = 38; F°C = 248; Rf = 0,55. ^1H RMN, 60 MHz, DMSO-d₆, δ ppm = 0,5 (t, 6H, 2CH₃); 1,8 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 4,95 (m (+ D₂O → s), 2H, N-CH₂-N); 6,05 (t, 1H, éch D₂O, NH-Ar); 8,6 (m, 1H, éch D₂O, NC-N-H-CH₂). 10,4 (s, 1H, éch D₂O, CO-NH-CO). Anal (C, H, N): C₁₅H₁₉N₄O₂Cl.

Étude des réactions secondaires dans le cas de l'utilisation de la 2,4-dichloroaniline

Elle est réalisée en utilisant le protocole décrit pour la préparation des composés **1-10** (vide supra) en utilisant 0,01 mol de 2,4-dichloroaniline.

Après chauffage au reflux du solvant, seul l'acide 5,5-diéthyl-4-iminobarbiturique qui n'a pas réagi précipite en partie. La phase liquide est alors concentrée à l'évaporateur rotatif, sous vide partiel et sans chauffage. Le résidu obtenu est

alors traité par chromatographie liquide moyenne pression (pompe: Duramat R; pression 4 bars; solvant: chloroforme/acétone 75/25, v/v; support: silice Kieselgel 60F Merck R). Les fractions sont analysées par chromatographie sur couche-mince (support: Kieselgel 60H Merck R; solvant: chloroforme/acétone 75/25, v/v). Les fractions identiques sont réunies. Le solvant est chassé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite et sans chauffage. Les composés **5**, **12** et **13** sont isolés. Le composé **5** a déjà été décrit plus haut.

4-(2,4-Dichlorophényl)aminométhylamino-5,5-diéthyl-2,6-dioxo-1,2,5,6-tétrahydropyrimidine **12**

Rdt % = 64; F°C = 98; Rf = 0,60. ¹H RMN, 60 MHz, DMSO-d₆, δ ppm = 0,5 (t, 6H, 2CH₃); 1,85 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 4,9 (m (+ D₂O → s), 2H, N-CH₂-N); 6,15 (t, éch D₂O, 1H, C-NH-C); 7,2 (m, 3H, Ar); 8,6 (m, 1H, éch D₂O, N-C-NH-CH₂); 10,3 (s, éch D₂O, 1H, CO-NH-CO). Anal (C, H, N): C₁₅H₁₈N₄O₂Cl₂.

1,3,5-Tri(2,4-dichlorophényl)-1,3,5-triazine **13**

Rdt % = 8; F°C = 162; Rf = 0,92. ¹H RMN, 60 MHz, CDCl₃, δ ppm = 4,52 (m, 6H, 3CH₂); 7,2 (m, 9H, Ar). Anal (C, H, N): C₂₄H₁₅N₃Cl₆.

Synthèse de **14**

4-[(N-méthylphénylamino)-méthylamino]-5,5-diéthyl-2,6-dioxo-1,2,5,6-tétrahydropyrimidine. Dans un Erlenmeyer de 250 ml, muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant à reflux, sont introduits successivement, 0,01 mol d'acide 5,5-diéthyl-4-iminobarbiturique (1,83 g), 2 ml de méthanol, 0,01 mol (0,9 ml) d'une solution aqueuse de formaldéhyde à 35% et 0,01 mol (1,08 ml) de N-méthylaniline.

Le mélange réactionnel est chauffé au reflux du solvant durant 5 min. Le précipité obtenu est filtré sur Büchner, lavé par de l'eau bouillante, puis filtré et séché.

Rdt % = 61; F°C = 228; Rf = 0,63. ¹H RMN, 60 MHz, DMSO-d₆, δ ppm = 0,6 (t, 6H, 2CH₃ d'Et); 1,95 (q, 4H, 2CH₂ d'Et); 3,1 (s, 3H, N-CH₃); 5,2 (d (+ D₂O → s), 2H, N-CH₂-N); 6,7-7,6 (m, 5H, C₆H₅); 8,6 (m, 1H, éch D₂O, N-C-NH-CH₂); 10,8 (m, 1H, éch D₂O, CO-NH-CO). Anal (C, H, N): C₁₆H₂₂N₄O₂.

Synthèse du composé **5 à partir du composé **12****

Dans un réacteur de 250 ml, équipé d'un dispositif d'agitation mécanique, d'une ampoule à brome et d'un réfrigérant, on introduit successivement 0,01 mol du composé **12** puis 8 ml d'éthanol absolu; le corps du réacteur est alors plongé dans la glace puis 0,1 mol d'aldéhyde formique sous forme d'une solution aqueuse à 35% est ajouté. Le milieu réactionnel est alors chauffé au bain-marie à 80°C, pendant 30 min à partir du début du reflux. Après refroidissement, un précipité apparaît. Après filtration et séchage au dessiccateur, le produit obtenu, **5**, est conforme à la description ci-dessus. Rdt % = 9.

Essais microbiologiques

Antifongiques

Les composés **1-9** ont été essayés sur les espèces suivantes: *Candida krusei*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus fumigatus* et *Epidermophyton floccosum*. Le nitrate de miconazole (Janssen-Le Brun, Paris) est utilisé comme référence.

Les substances à essayer sont solubilisées dans le diméthylsulfoxyde DMSO (maximum 2,5% DMSO pour la dilution 300 µg/ml). On utilise la méthode des dilutions progressives entre 300, 100, 30, 10, 3, 1 µg/ml dans un milieu liquide de Sabouraud (pH ajusté à 6,5). L'incubation s'effectue à 25 ± 2°C à l'obscurité, jusqu'à ce que les premiers témoins poussent, on considère alors comme positif par rapport au témoin tout tube ne présentant pas de poussée visible.

Antibactériens

Les composés **1-9** ont été testés sur les souches suivantes: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (spores), *Bacillus cereus* ATCC 9634 (spores), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Streptococcus uberis* (mammites), *Streptococcus agalactiae* (mammites), *Pseudomonas aeruginosa* (mammites). Une gamme de concentrations de 400 à 1 µg/ml a été effectuée, en partant de solutions mère titrant de 40 à 0,1 mg/ml, réalisées dans le diméthylformamide, et introduites dans une gélose trypticase-soja liquéfiée et ramenée à 45°C. Les CMI ont été déterminées sur milieu gélose trypticase-soja, après ensemencement en stries de 40 mm par des suspensions des différents germes dans l'eau distillée stérile. La lecture est faite après 24 h d'incubation à 35°C. La polymixine a été utilisée comme substance de référence.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier F Tillequin, pour les spectres de ¹H RMN à 270 MHz, S Mairesse-Lebrun pour les microanalyses et N Verdier pour sa collaboration technique.

Références

- 1 Jones M (1980) *Ann Rev Biochem* 49, 253-279
- 2 Smith Jr LH (1973) *N Engl J Med* 288, 764-771
- 3 Bakley RL, Benkovic SJ (1984) *Folates and Pterins* 1, Wiley Interscience, NY
- 4 Hitchins GH (1983) *Inhibition of Folate Metabolism in Chemotherapy*, Springer Verlag, Berlin
- 5 Delia TJ, Sami SM (1981) *J Heterocyclic Chem* 18, 929-931
- 6 Kay IT (1975) *Ger Offen* 2, 452, 893
- 7 Nair MG, Murthyr BR, Patil SD, Kisliuk RL, Thorndikes J, Gaumont Y, Ferone R, Duch DS, Edelstein MR (1989) *J Med Chem* 32, 1277-1284
- 8 Karmouta MG, Lafont O, Combet Farnoux C, Miocque M (1977) *C R Acad Sci Sér C* 285, 25-28
- 9 Karmouta MG, Lafont O, Combet Farnoux C, Miocque M, Rigotherier MC, Louchon B, Gayral P (1980) *Eur J Med Chem* 15, 341-349
- 10 Simon D, Lafont O, Mahuteau J, Karmouta MG, Combet Farnoux C (1982) *Ann Pharm Fr* 40, 515-518
- 11 Gueutin-Pelinard C, Giraud C, Lafont O, Guernet M (1983) *C R Acad Sci Sér C* 296, 1489-1492
- 12 Giraud C, Gueutin C, Lafont O, Guernet M, Miocque M (1988) *Chem Pharm Bull* 36, 563-570
- 13 Peesapati V, Pauson PL, Pethrick RA (1987) *J Chem Res* (s), 194-195
- 14 Conrad M (1905) *Annalen* 340, 310-335