

Synthèse et activité anti-bactérienne d'acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques

G Malicorne, J Bompard, L Giral^{1*}, E Despau²

¹Laboratoire de Chimie Organique Structurale, USTL, Place Eugène Bataillon, 34060 Montpellier
²Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Immunologie, Hôpital Saint-Éloi, 34059 Montpellier Cedex, France

(Reçu le 28 mars 1989; accepté le 15 janvier 1990)

Résumé — Les auteurs décrivent la synthèse d'une série d'acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques originaux différemment substitués en position 2. L'activité anti-bactérienne a été évaluée et a été trouvée différente de celle de la série des thiéno(2,3-*b*)pyridine.

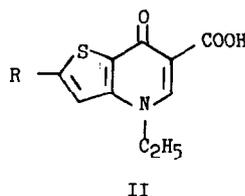
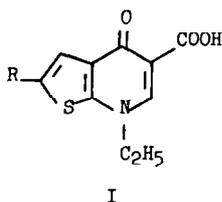
Summary — **Synthesis and antibacterial activity of 4,7-dihydro-4-ethyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxylic acids.** *The synthesis of some new 4,7-dihydro-4-ethyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxylic acids with various substituents on position 2 is described. The evaluation of the anti-bacterial activity of some compounds shows an activity different to those of the thiéno(2,3-*b*)pyridine series.*

thiéno(3,2-*b*)pyridines / quinolones / anti-bacterial activity

Introduction

Les différents travaux réalisés au laboratoire sur les acides 4,7-dihydro-7-éthyl-4-oxothiéno(2,3-*b*)pyridine-5-carboxyliques de formule générale I ont montré que les premières séries de composés synthétisés présentent une bonne activité antibactérienne [1, 2], susceptible d'ailleurs d'être améliorée à partir des relations structure-activité [3].

Il nous a paru intéressant d'élargir le champ de nos études à la série voisine des acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques de formule générale II.



Peu de travaux ont été effectués dans cette famille de composés. Ils sont mentionnés essentiellement dans les trois brevets japonais [4–6]. Un seul d'entre eux [4] décrit la synthèse et les activités bactéricides des dérivés halogénés (R = Cl, Br et I). Ces activités sont bonnes en particulier pour le composé iodé. Dans les deux autres brevets [5, 6] les synthèses d'un certain nombre d'analogues sont reportées sans que l'activité antibactérienne soit notée.

Plus récemment Elliott *et al* [7] ont préparé différentes molécules du type II pour lesquelles R est un hétérocycle azoté (pipérazine, thiomorpholine...) et n'ont pas observé d'activité antibactérienne importante avec ces produits.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de préparer les acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques II pour lesquels les substituants R seraient choisis parmi ceux qui ont apporté une amélioration de l'activité antibactérienne dans la série des acides 4,7-dihydro-7-éthyl-4-oxothiéno(2,3-*b*)pyridine-5-carboxyliques I.

Dans un premier temps, nous avons entrepris la synthèse des composés II suivants:

1 R = H; **2** R = CHO; **3** R = COCH₃; **4** R = CH=NC₆H₄-pOCH₃; **5** R = CH=NOH; **6** R = CN; **7** R = CH=NOCH₃; **9** R = CN=N=NHTosyl; **10** R = CH₂-OH.

* Correspondance et tirés à part

Chimie

Synthèse du composé II 1

Dans la littérature [3, 7, 8] les synthèses décrites conduisent à des rendements globaux faibles; elles sont longues et délicates à conduire.

Nous avons mis au point un mode opératoire permettant d'atteindre les composés II sélectionnés avec un excellent rendement. Nous décrivons le cas de II 1 (R = H) en détail. Les étapes sont résumées dans le schéma 1.

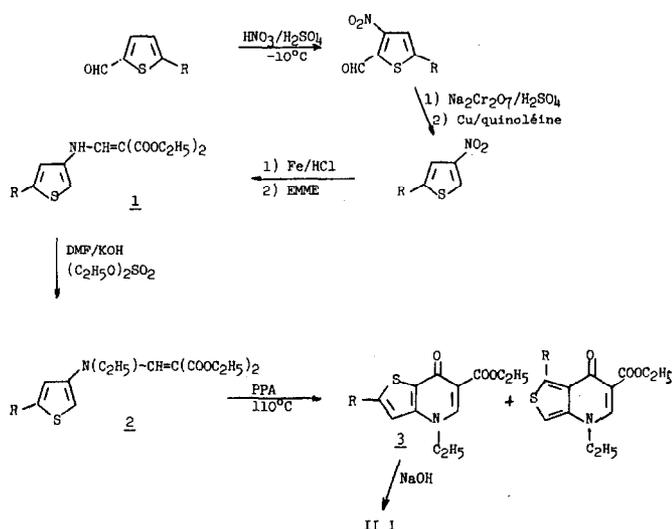


Schéma 1.

Le 2-formylthiophène est traité par le mélange acide nitrique acide sulfurique, selon la procédure de Foye [10]. On isole les deux isomères avec un rendement de 80%. Leur séparation s'effectue par cristallisation et chromatographie sur colonne. L'oxydation par le bichromate de sodium et la pyrolyse de l'acide intermédiaire à 260°C dans la quinoléine en présence de cuivre conduisent au nitro-3 thiophène. Le rendement global de ces étapes est de 60%.

Le 3-nitrothiophène est réduit en 3-aminothiophène par le fer et l'acide chlorhydrique, ce dernier réagit *in situ* avec l'éthoxyméthylène malonate de diéthyle (EMME) pour donner 1 avec un rendement de 90%.

Comme nous l'avons observé dans la série des thiéno(2,3-*b*)pyridines, il est préférable d'alkyler l'atome d'azote avant de réaliser la cyclisation. Celle-ci est effectuée sur le produit N-alkylé 2 dans l'acide polyphosphorique (PPA) à 110°C pendant un quart d'heure, pour conduire à l'éther éthylique de l'acide 4,7-dihydro-7-éthyl-4 oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-car-

boxylique 3, qui est ensuite saponifié en présence de soude dans un mélange eau-méthanol pour donner l'acide II 1.

Il est à noter que lors de l'étape de cyclisation dans l'acide polyphosphorique qui s'effectue par attaque d'un carbone du thiophène sur le carbone d'un groupement carboxylate d'éthyle, nous pouvons envisager deux types de composés selon que la réaction a lieu sur le C₂ ou le C₄.

Le spectre RMN ¹H du produit obtenu après cyclisation nous révèle un couplage *ortho* entre les deux protons du cycle thiophène, on obtient exclusivement l'ester éthylique de structure (3,2-*b*). Ceci est d'ailleurs en accord avec les travaux qui ont été réalisés par Paulmier *et al* [11, 12] sur ce type de composé.

Préparation des composés II 2 à II 10

L'ensemble de ces composés a été préparé suivant le processus opératoire décrit dans le schéma 1.

Les 2-acétyl et 2-formyl-4-nitrothiophène obtenus par nitration des 2-acétyl- et 2-formyl thiophène sont traités par le fer et l'acide chlorhydrique dilué pour donner les *N*-(4-thiényl)aminoéthylène malonates de diéthyle.

Le substituant formyle a dû être protégé afin d'éviter une réaction de Cannizzarro, qui apparaît lors de l'étape d'alkylation de l'atome d'azote.

Après avoir étudié plusieurs groupements protecteurs, nous avons porté notre choix sur une base de Schiff aromatique. C'est ainsi que l'aldéhyde est condensé avec la *para*-anisidine. Ce dernier est alors traité selon le mode opératoire classique pour donner avec un excellent rendement l'acide II 4 (R = CH=N-C₆H₄-*p*-OCH₃).

Les composés II 5 à II 9 ont été préparés à partir de l'acide II 2 ou de l'ester éthylique de cet acide 3.

Tout d'abord, par action du chlorhydrate d'hydroxylamine sur l'aldéhyde II 2 on obtient avec un rendement de 90% le produit II 5 (R = CH=NOH). L'étude du spectre RMN ¹H nous révèle la présence de deux isomères *syn* et *anti* en quantité égale.

La fonction oxime est ensuite déshydratée au reflux de l'anhydride acétique pour fournir l'acide II 6 (R = CN) avec un rendement de 70%.

Le composé II 7 (R = CH=NOCH₃) est préparé à partir de l'acide II 2 (R = CHO) en faisant réagir le chlorhydrate de méthoxylamine en milieu alcalin. Comme pour l'acide II 5 nous sommes en présence des deux isomères *syn* et *anti*. Ce dernier, majoritaire, peut être isolé pur par recristallisation fractionnée dans un mélange DMF-alcool. Le filtrat restant nous permet d'obtenir un précipité constitué d'un mélange 50/50 des deux isomères.

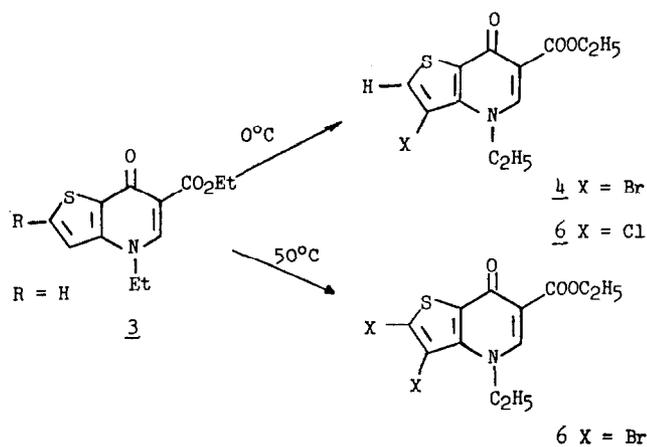
La réduction et la condensation avec le tosylhydrazide de l'ester 3 (R = CHO) fournit respectivement avec un rendement quantitatif les esters pour lesquels

R = CH₂OH et R = CH₂-NNHtosyle. En solution basique ceux-ci conduisent aux acides II 10 (R = CH₂-OH) et II 9 (R = CH=N-NH-tosyl).

Les composés II 5 à II 9 ont été préparés à partir de l'acide II 2 ou de l'ester éthylique de cet acide 3.

Synthèse des composés halogènes

L'halogénéation du composé 3 (avec R = H) selon la méthode de Derbyshire et Waters [12], qui consiste à bromer en présence d'acide sulfurique et de sulfate d'argent, nous a permis d'isoler soit le dérivé monobromé en position 3 si la réaction est effectuée à 0°C, soit le dibromé en 2 et 3 lorsque cette réaction est réalisée à 50°C.



La réaction a donné de bons résultats, lorsque X = Br et Cl, par contre l'iodation ne s'est pas effectuée. On retrouve ici la réactivité particulière du carbone en 3 déjà notée [7] lors de la nitration.

L'ensemble des acides obtenus ainsi que leurs caractéristiques sont rassemblés dans le tableau I. Dans les tableaux II, III et IV nous avons regroupé les caractéristiques physico-chimiques et les déplacements chimiques des dérivés originaux intermédiaires.

Résultats et discussion

L'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de ces acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)-pyridine-6-carboxyliques substitués en position 2 a été faite par une détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu solide vis-à-vis d'une vingtaine d'espèces. L'acide nalidixique (AN) essayé en parallèle, est pris comme référence. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) expri-

mées en µg/ml de ces divers composés sont rassemblées dans le tableau V.

L'examen de ce tableau indique que les acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques monosubstitués en position 2 par des groupements qui avaient permis d'accroître l'activité dans la série des thiéno(2,3-*b*)pyridines I [1, 2], tels que les éthers d'oxime et les imines aromatiques ne présentent plus aucune activité antimicrobienne *in vitro* dans cette nouvelle famille (CMI supérieur à 128 µg/ml). A noter que la configuration des isomères *syn* et *anti* importe peu, leur CMI étant similaire sur tous les microorganismes, à une dilution près.

Seuls deux composés II 3 et 5 montrent une activité antibactérienne intéressante. Si on compare (tableau V) les CMI trouvées avec II 3 (R = COCH₃) sur les espèces étudiées aux CMI mesurées avec l'acide nalidixique sur ces mêmes espèces, on ne trouve aucune différence. On peut également noter que l'homologue de II 3 dans la série des thiéno(2,3-*b*)pyridine I était inactif.

Quant aux acides monohalogénés en position 3 (4 et 6) le composé chloré montre seulement une activité sur les souches du genre *Morganella morganii* (CMI = 8 µg/ml) et *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 16 µg/ml), en revanche ces microorganismes restent insensibles vis-à-vis du composé monobromé 4.

L'acide 2,3-dibromo-4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno-(3,2-*b*)pyridine-6-carboxylique (X = R = Br) présente un spectre antimicrobien similaire à une dilution près à celui de l'acide nalidixique. Par exemple vis-à-vis des souches du genre *Proteus vulgaris* la CMI est de 2 µg/ml; elle est de 4 µg/ml pour l'acide nalidixique. De même vis-à-vis des souches du genre *Serratia marcescens*, on note une CMI de 8 µg/ml alors qu'elle est de 4 µg/ml pour l'acide nalidixique.

Conclusion

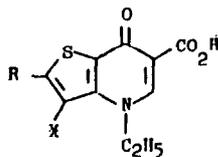
Il apparaît que cette série de thiéno(3,2-*b*)pyridines II, bien que présentant des analogies de structure avec la famille des thiéno(2,3-*b*)pyridines I, n'a pas le même comportement.

Toutefois, d'après les références [1, 5], il apparaît que les composés substitués en position 2 par un halogène sont biologiquement actifs et ceci quelle que soit la famille considérée.

Les travaux réalisés ont effectivement mis en évidence une activité moyenne pour les acides 3-bromo et 3-chloro-4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno-(3,2-*b*)pyridine-5-carboxyliques et une bonne activité pour le composé dibromé 6.

L'étude des composés bromés ou chlorés sera poursuivie.

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques et déplacements chimiques des atomes d'hydrogène dans DMSO-d₆ des acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxyliques (appareil Bruker CW 80).



n°	R	X	Analyse	Pf (°C)	I. R. (cm ⁻¹) KBr	N-CH ₂ -CH ₃		R ₃	H ₅ (s)	R ₂ =CH=N-R'		R ₂
						CH ₃ (t)	CH ₂ (q)			CH (s)	R'	
II 1	H	H	C ₁₀ H ₉ NO ₃ S	230	1722-1608-1495-1450	1,47	4,40	8,45 (d)	8,95	-	-	7,80 (d)
II 2	CHO	H	C ₁₁ H ₉ NO ₄ S	275	1724-1692-1607-1452	1,50	4,60	8,70 (s)	9,05	-	-	10,20 (s)
II 3	COCH ₃	H	C ₁₂ H ₁₁ NO ₄ S	290	1720-1674-1605-1447	1,50	4,60	8,65 (s)	9,05	-	-	2,75 (s)
II 4	CH=NC ₆ H ₄ POCH ₃	H	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	290	1725-1605-1450	1,45	4,60	8,40 (s)	9,00	8,10	3,50 (s) 7,70 (q)	-
II 5	CH=NOH	H	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	302	1720-1610-1460	1,48	4,58	Syn 8,20 Ant 8,65	8,85 9,00	8,10 8,05	-	-
II 6	CN	H	C ₁₁ H ₈ N ₂ O ₃ S	283-284	2220-1720-1600-1460	1,46	4,60	8,75 (s)	9,05	-	-	-
II 7	CH=NOCH ₃	H	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	255-256	1718-1608-1487-1042	1,46	4,60	Syn 8,20 Ant 8,65	8,90 9,00	8,10 8,05	4,15 (s) 4,00 (s)	-
II 9	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4\text{PCH}_3 \\ \text{O} \end{array}$	H	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O ₅ S ₂	222	1680-1600-1460-1350	1,45	4,50	8,25 (s)	8,90	8,05	2,40 (s) 7,68 (q) 12,00 (s)	-
II 10	CH ₂ OH	H	C ₁₁ H ₁₁ NO ₄ S	270	1710-1615-1530-1460	1,46	4,55	7,68 (s)	8,95	-	-	4,80 (s)
4	H	Br	C ₁₀ H ₈ BrNO ₃ S	230	1726-1607-1510-1479	1,50	4,92	-	8,98	-	-	8,60 (s)
5	Br	Br	C ₁₀ H ₇ Br ₂ NO ₃ S	252	1730-1610-1510-1480	1,52	4,90	-	8,90	-	-	-
6	H	Cl	C ₁₀ H ₈ ClNO ₃ S	198	1725-1610-1510-1480	1,50	4,85	-	8,95	-	-	8,50 (s)

Protocoles expérimentaux

Les points de fusion, non corrigés, ont été déterminés en capillaire à l'aide de l'appareil de Tottoli. Le R_f a été déterminé sur plaque de silica gel Merck 60 F₂₅₄, la révélation étant effectuée à l'aide d'une lampe à rayons ultraviolets (λ : 254 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 dans chaque tableau. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés par rapport au tétraméthylsilane pris comme référence interne. Ils sont exprimés en 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.

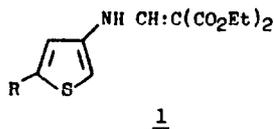
Synthèse des N(4-thiényl)aminométhylène malonate de diéthyle (tableau II)

Préparation des dérivés I (R = H), (R = CHO) et (R = COCH₃)

Le mode opératoire étant identique pour ces trois composés, nous ne décrivons que celui du composé I R = CHO.

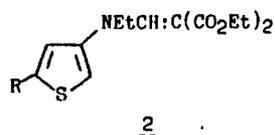
Dans un réacteur de 250 ml muni d'une agitation mécanique vigoureuse, et surmonté d'un réfrigérateur et d'une ampoule à brome, on introduit 17 g (0,108 ml) de 4-nitrothiénylaldéhyde, 36 g (0,64 mol) de fer en poudre, 21,66 ml d'éthanol à 50%.

Tableau II. Caractéristiques physico-chimiques et déplacements chimiques des atomes d'hydrogène dans CDCl_3 des *N*(4-thiényle)amino méthylènemalonate de diéthyle (appareil Bruker CW 80).



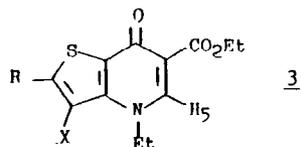
Substituant	Rdt (%)	Pr (°C)	C.C.M.		CH ₃ (td)	CH ₂ (qd)	CH (d)	NH (d)	J _{CHNH} (Hz)	Thiényle		Substituant
			Eluant	Rf						H ₃	H ₅	
H	80	77	Hexane 10 Ether 10	0,4	1,30 1,35	4,20 4,30	8,40	11,00	14,0 Hz	7,00(dd)	6,90 (m)	7,35 (dd)
CHO	30	102-103	Ether	0,73	1,35 1,40	4,35 4,45	8,50	11,30	13,5 Hz	7,85 (d)	7,50 (d)	10,15 (d)
COCH ₃	75	82-83	CH ₂ Cl ₂ 16 Ether 4	0,71	1,36 1,40	4,30 4,40	8,50	11,30	13,5 Hz	7,70 (d)	7,30 (d)	2,6 (s)
CH:NC ₆ H ₄ 4OCH ₃	100	144-145	Ether	0,62	1,32 1,37	4,30 4,37	8,45	11,05	11 Hz	7,35 (d)	7,00 (d)	3,85 (s) 7,2 (q) 8,6 (s)

Tableau III. Caractéristiques physico-chimiques et déplacements chimiques des atomes d'hydrogène dans CDCl_3 des *N*-éthyle *N*(4-thiényle)amino méthylènemalonate de diéthyle (appareil Bruker CW 80).



Substituant	Rdt (%)	C.C.M.		Pr (°C)	COOCH ₂ CH ₃		NCH ₂ CH ₃		J _{CHNH} (Hz)	Thiényle		Substituant
		Eluant	Rf		CH ₃ (m)	CH ₂ (qd)	CH ₃ (m)	CH ₂ (qd)		H ₃	H ₅	
H	95	Ether 12 Hexane 8	0,43	-	1,2	3,9 4,15	1,2	3,65	7,70	7,00 (m)	6,95 (m)	7,35 (m)
COCH ₃	70	Ether 17 Hexane 3	0,42	100	1,2	3,95 4,25	1,2	3,75	7,80	7,75 (s)	7,45 (s)	2,5 (s)
CH:NC ₆ H ₄ 4OCH ₃	80	Ether	0,62	-	1,15	3,95 4,30	1,15	3,65	7,65	7,30 (s)	7,10 (s)	3,75 (s) 7,10 (q) 8,50 (s)

Tableau IV. Caractéristiques physico-chimiques et déplacements chimiques des atomes d'hydrogène des 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-*b*)pyridine-6-carboxylate d'éthyle (appareil Bruker CW 80).



R	X	Rdt (%)	Pp (°C)	C.C.M.		Déplacements chimiques des hydrogènes (ppm)							
				Eluant	Rf	Solvant	COOC ₂ H ₅		NC ₂ H ₅		R	X	H ₅ (s)
							CH ₃ (t)	CH ₂ (q)	CH ₃ (t)	CH ₂ (q)			
H	H	100	162	CH ₂ Cl ₂ 19 MeOH 1	0,72	A	1,55	4,45	1,40	4,25	7,2 (d)	7,8 (d)	8,40
COCH ₃	H	100	168	CH ₂ Cl ₂ 19 MeOH 1	0,62	A	1,55	4,40	1,40	4,20	2,6 (s)	7,7 (s)	8,40
CH=NC ₆ H ₄ pOCH ₃	H	98	244-245	CH ₂ Cl ₂ 19 MeOH 1	0,70	B	1,45	4,40	1,30	4,30	8,9 (s) 7,2 (q) 3,8 (d)	8,0 (s)	8,60
CHO	H	95	240	CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,30	A	1,60	4,45	1,40	4,30	10,1 (s)	7,9 (s)	8,45
CH ₂ OH	H	95		CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,50	B	1,60	4,45	1,40	4,30	4,75 (s)	7,6 (s)	8,50
CH=N - NHTosyl	H	90	178	CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,45	B	1,40	4,35	1,30	4,25	12,0 (s) 8,6 (s) 7,7 (q) 3,2 (s)	7,9 (s)	8,25
H	Br	90	230	CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,65	A	1,60	4,75	1,40	4,40	7,85 (s)	-	8,50
H	Cl	40	220	CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,67	A	1,60	4,75	1,40	4,40	7,90 (s)	-	8,50
Br	Br	30	186	CHCl ₃ 19 MeOH 1	0,80	A	1,60	4,75	1,40	4,45	-	-	8,40

On chauffe à reflux le milieu réactionnel puis on lui ajoute très lentement (1 goutte/10 s) une solution de 2,3 ml d'HCl à 35% dans 14 ml d'éthanol à 50% sous forte agitation. Il est préférable de prévoir une source froide car la réaction est très exothermique.

Après addition totale de l'HCl, le milieu réactionnel est maintenu à reflux pendant un quart d'heure puis la solution est concentrée à sec après filtration. On reprend alors le tout dans l'hexane chaud afin d'éliminer les goudrons et la solution organique est mise au congélateur. Par filtration, on recueille le produit souhaité.

Synthèse du dérivé 1 (R = CH=NC₆H₄-p-OCH₃)

Dans un Erlenmeyer rodé de 100 ml on introduit 1 g (3,36 10⁻³ mol) de N-(2-formyl-4 thiényl)aminométhylène malonate

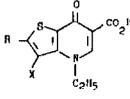
de diéthyle 4, 0,6 g (5 10⁻³ mol) de *para*-anisidine et on dissout le tout dans un minimum de méthanol chaud. La réaction est maintenue jusqu'à ce que le produit souhaité précipite. Le tout est alors placé au congélateur et le produit est filtré, lavé à l'alcool et l'éther, puis séché au dessiccateur.

Préparation des N-éthyl N-(4-thiényl)aminométhylène malonate de diéthyle (tableau III)

Le mode général de synthèse pour les composés 2 R = H; R = COCH₃; R = CH = NC₆H₄-p-OCH₃ est décrit ci-après.

Dans un Erlenmeyer de 500 ml on introduit 2,25 g (0,04 mol) de KOH finement pilée, puis 9 g (0,03 mol) de N-(4-thiényl)aminométhylène malonate de diéthyle et 200 ml de diméthylformamide et le tout est chauffé à 60°C environ.

Tableau V. Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g/ml}$) de treize quinolones. + indique que la CMI est supérieure à 128 $\mu\text{g/ml}$. b) ATCC référence internationale. IP: référence de l'Institut Pasteur de Paris (collection microbienne). AN: acide nalidixique.

Souches R		II 1	II 2	II 3	II 4	II 5	II 6	II 7	II 8	II 9	II 10	4	5	6	AN	
		H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	Br	Br	Cl	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144 (b)		+	128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25.923		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	32	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 11.700		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 10.541		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15.313		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Branhamella catarrhalis</i> ATCC 25.238		128	+	64	32	+	+	+	+	+	+	+	4	+	8	
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	64	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25.922		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8	128	4	
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090		+	+	4	+	+	+	+	+	+	+	+	8	64	4	
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 29.330		+	+	8	+	+	+	+	+	+	+	+	8	128	4	
<i>Salmonella typhi</i> TP 5535		+	+	8	+	+	+	+	+	+	+	+	16	64	4	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13.311		+	+	8	+	+	+	+	+	+	+	+	8	64	4	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10.031		+	+	8	+	+	+	128	64	+	+	32	1	16	4	
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13.047		+	+	4	+	+	+	+	+	+	+	+	16	64	4	
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 4003		+	+	8	+	+	+	64	+	+	+	+	8	64	4	
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610		+	+	8	+	+	+	128	128	+	+	+	4	128	32	
<i>Proteus mirabilis</i> TP 54.163		+	+	16	+	+	+	64	+	+	+	+	4	128	4	
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13.315		+	+	16	+	+	+	32	32	+	+	64	2	32	4	
<i>Providencia rettgeri</i> TP 6924		+	+	4	+	+	+	64	64	+	+	+	8	64	4	
<i>Providencia stuartii</i> TP 6526		+	+	6	+	+	+	+	+	+	+	+	64	+	32	
<i>Morganella morganii</i> ATCC 25.830		+	+	4	+	+	+	32	32	+	128	8	2	8	4	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27.853		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> subsp <i>anitratus</i> ATCC 23.055		+	+	16	+	32	+	8	8	+	+	64	2	64	4	

On ajoute alors 4,2 ml (0,03 mol) de sulfate de diéthyle et on chauffe à 80°C pendant 2 h. Lorsque la réaction est terminée, on évapore à sec le diméthylformamide et on reprend le résidu avec de l'hexane chaud, afin d'éliminer les goudrons qui se sont formés lors de la réaction. On obtient alors une huile jaunâtre composée du produit attendu qui n'a pu être obtenu sous forme cristalline. Seul le composé **2** ($R = \text{COCH}_3$) a pu être cristallisé à froid dans un mélange éther/hexane.

Synthèse des 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylate d'éthyle 3 (tableau IV)

À partir d'un N-éthyl N-(4-thiényl)aminométhylène malonate de diéthyle ($R = H$; $\bar{R} = \text{COCH}_3$; $\bar{R} = \text{CH}=\text{NC}_6\text{H}_4\text{-p-OCH}_3$) Dans un Erlenmeyer de 100 ml munie d'une garde à CaCl_2 , on introduit 10 g d'acide polyphosphorique que l'on chauffe à 120°C puis on ajoute 1 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) de N-(méthyl-2-carbonyl-4-thiényl)aminométhylène malonate de diéthyle correspondant et le tout est agité à 120°C pendant une demi-heure.

Après refroidissement du milieu réactionnel, on ajoute 100 ml d'eau glacée par petite quantité car la réaction est très violente, puis on neutralise au Na_2CO_3 . Le produit désiré qui précipite est lavé à l'eau glacée puis séché dans un dessiccateur.

À partir du 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxo-7-thiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylate d'éthyle substitué en 2

Synthèse du dérivé 3 ($R = \text{CHO}$). Dans un Erlenmeyer de 50 ml contenant 1 g ($2,6 \cdot 10^{-3}$ mol) de **3** ($R = \text{CH} = \text{NC}_6\text{H}_4\text{-p-OCH}_3$) et 50 ml d'acétone, on ajoute goutte à goutte quelques traces d'HCl dilué. La solution devient limpide et la réaction est maintenue à température ambiante pendant une demi-heure. On évapore ensuite l'acétone et le résidu est repris dans 100 ml d'eau que l'on extrait avec trois fois 100 ml de chlorure de méthylène. Les phases organiques sont rassemblées, puis évaporées à sec pour laisser apparaître le composé désiré **3** ($R = \text{CH}=\text{O}$) qui est recristallisé dans du méthanol chaud. La solution est placée au congélateur et on recueille ainsi par filtration le produit attendu.

Synthèse du dérivé 3 ($R = \text{CH}=\text{N-NHSO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-p-CH}_3$). Dans un Erlenmeyer de 100 ml on introduit 0,7 g ($2,8 \cdot 10^{-3}$ mol) de **3** ($R = \text{CHO}$) 50 ml de méthanol et 1 g ($5,37 \cdot 10^{-3}$ mol) de tosylhydrazine et on chauffe le tout à reflux jusqu'à ce qu'un précipité jaune, apparaisse. Celui-ci est filtré sur fritté puis lavé au méthanol froid et à l'éther.

Synthèse du dérivé 3 ($R = \text{CH}_2\text{OH}$). Dans un Erlenmeyer de 250 ml contenant 0,4 g ($1,6 \cdot 10^{-3}$ mol) de **3** ($R = \text{CHO}$) 0,2 g de palladium sur charbon activé à 10% et 80 ml d'isopropanol on ajoute par petites quantités 0,4 g ($1,05 \cdot 10^{-2}$ mol) de borohydrure de sodium et le tout est chauffé à reflux pendant 4 h. L'isopropanol est évaporé, puis le résidu est repris par 50 ml d'eau que l'on extrait à l'aide de chlorure de méthylène. Les phases organiques sont rassemblées puis évaporées à sec et on voit apparaître un solide blanc qui est séché au dessiccateur. On recueille ainsi 0,4 g de produit **3** ($R = \text{CH}_2\text{OH}$).

Halogénéation du 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylate d'éthyle

Synthèse du dérivé 3 ($R = H$, $X = \text{Br}$). Dans un Erlenmeyer de 50 ml refroidit à 0°C contenant 0,5 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylate d'éthyle **3**, 10 ml d'acide sulfurique concentré, 1,1 g de sulfate d'argent, on ajoute lentement 0,2 ml de brome. Le milieu réactionnel est agité à cette température pendant un quart d'heure

puis il est jeté sur la glace, neutralisé au Na_2CO_3 puis extrait au chloroforme.

Après évaporation du solvant organique, le résidu est repris dans de l'éthanol chaud et mis au congélateur. Le solide est filtré, puis séché au dessiccateur.

Synthèse du dérivé 3 ($R = X = \text{Br}$). La réaction est réalisée de manière similaire à celle du composé **14**. On chauffe à 50°C le milieu réactionnel pendant 2 h et on obtient ainsi le composé dibromé.

Synthèse du dérivé 3 ($R = H$, $X = \text{Cl}$). Dans un Erlenmeyer de 50 ml contenant 0,5 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylate d'éthyle **3** 10 ml d'acide sulfurique concentré, 1,1 g de sulfate d'argent chauffé à 50°C, on fait barboter du chlore gazeux pendant 24 h.

Préparation des acides 4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxyliques II

Ces acides ont été synthétisés selon deux méthodes, soit par hydrolyse basique des esters éthyliques correspondants, soit par réaction avec un acide existant.

La pureté des produits ainsi obtenus a été contrôlée par HPLC sur colonne Lichrosorb RP-18. L'éluant utilisé est constitué d'un mélange 55% de méthanol et 45% d'une solution aqueuse contenant 7,5 g/l de KH_2PO_4 , 2,5 g/l de Na_2HPO_4 ajustée à pH = 8,2 à l'aide d'une solution de NaOH 1 N. À cette solution sont ajoutés 2 g de bromure de N,N,N-triméthyl N-cétyl ammonium.

L'appareil de chromatographie utilisé est un Varian 5000, la détection est faite par UV à 254 nm. Les caractéristiques physico-chimiques de ces acides sont reportées dans le tableau I.

Synthèse des acides par saponification des esters éthyliques correspondants

Dans un Erlenmeyer de 50 ml on place 12,5 mmol de NaOH que l'on dissout dans 20 ml d'eau, puis on ajoute $3 \cdot 10^{-4}$ mole d'ester éthylique et une quantité de méthanol suffisante pour dissoudre le composé à chaud. Lorsque ce dernier est solubilisé la solution est ramenée à température ambiante et la réaction est suivie par HPLC. Quand la saponification de l'ester est terminée, on neutralise à l'aide d'HCl dilué; l'acide désiré précipite. Il est alors filtré, lavé à l'eau, l'alcool et l'éther, puis séché au dessiccateur.

Synthèse des acides à partir d'un acide existant

Acide 4,7-dihydro-4-éthyl-2-formyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylique II 2 ($R = \text{CHO}$). Dans un Erlenmeyer muni d'un agitateur mécanique et surmonté d'un réfrigérant, on introduit 0,2 g d'acide **II 4** ($R = \text{CH}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4\text{-p-OCH}_3$), 20 ml d'HCl concentré et le tout est agité pendant 4 h. Le précipité formé est recueilli sur fritté, puis lavé à l'alcool, à l'éther et séché au dessiccateur (rendement: 80%).

Acide 4,7-dihydro-4-éthyl-2-N-(hydroxy)imino-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylique II 5 ($R = \text{CH}=\text{NOH}$). Dans un Erlenmeyer de 50 ml, on introduit 0,5 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) d'acide 4,7-dihydro-4-éthyl-2-formyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylique **II 2**, 3 mmol de chlorhydrate d'hydroxylamine, 20 ml d'éthanol puis la solution est neutralisée par du NaOH dilué. La réaction est agitée à 20°C et contrôlée par HPLC. Lorsque celle-ci est terminée on acidifie à l'aide d'HCl dilué jusqu'à apparition d'un précipité. Ce dernier est alors filtré,

lavé à l'alcool puis à l'éther et séché au dessiccateur. On obtient alors un mélange d'isomère *syn* et *anti* avec un rendement de 90%.

Acide 2-cyano-4,7-dihydro-4-éthyl-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylique II 6 ($R_2 = CN$). Dans un Erlenmeyer rodé de 50 ml munie d'un agitateur magnétique et d'un réfrigérant, on place 0,2 g de dérivé II ($R = CH=NOH$) et 10 ml d'anhydride acétique et le tout est porté à reflux pendant 3 h. La solution est ensuite évaporée à sec sous vide et le résidu est repris dans le minimum de diméthylformamide chaud et placé au congélateur. Le précipité formé est filtré, lavé à l'alcool et à l'éther puis placé au dessiccateur (rendement: 70%).

Acide 4,7-dihydro-4-éthyl-2-N-(méthoxy) imino-7-oxothiéno(3,2-b)pyridine-6-carboxylique II 7 ($R_2 = CH=NOCH_3$). Dans un Erlenmeyer de 50 ml contenant 0,5 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol), de dérivé II 2 ($R = CHO$), 0,25 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) de chlorhydrate de méthoxyamine et 20 ml d'éthanol on ajoute goutte à goutte du NaOH 1 N jusqu'à dissolution totale du composé, puis la solution est agitée à température ambiante pendant 1 h. Elle est alors acidifiée jusqu'à ce que le produit souhaité précipite, ce dernier est filtré puis dissous dans un mélange diméthylformamide-alcool à chaud et placé au congélateur.

Dans un premier temps, seul l'isomère *anti* précipite, il est alors filtré et le filtrat est replacé au congélateur. Cette deuxième opération permet d'isoler les isomères *syn* et *anti* dans les proportions 50/50 (rendement = 90%).

Tests pharmacologiques

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 U formant colonies déposé sur milieu gélosé à l'aide d'un ensemencneur multiple.

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

Références

- 1 Bompert J, Giral L, Malicorne G, Puygrenier M (1987) *Eur J Med Chem* 22, 139–145
- 2 Bompert J, Giral L, Malicorne G, Puygrenier M (1988) *Eur J Med Chem* 23, 457–464
- 3 Bompert J, Calas M, Giral L, Grassy G, Tabary X, Moreau N (1988) GESA XVIII Cannes
- 4 Yanabe S, Utsuni I, Jsukamoto G, Kanashima T, Uno T (1982) EP 46990 *Chem Abstr* 97, 922549
- 5 Kanebo Ltd (1982) Japan Kokai 57.142.985, *Chem Abstr* 984537b
- 6 Kanebo Ltd (1982) Japan Kokai 57.116.077, *Chem Abstr* 97.216.153c
- 7 Elliot RL, O'Hamlon PJ, Rogers NH (1987) *Tetrahedron* 43, 14, 3295–3302
- 8 Khan NA, Guarconi AE (1977) *J Heterocycl Chem* 14, 807
- 9 Barker JN, Huddleston PR (1978) *J Chem Res (M)* 4701–4712
- 10 Foye WO, Hefferen J, Feldmann EG (1954) *J Am Chem Soc* 76, 1378
- 11 Outurquin F, Lerouge P, Paulmier G (1986) *Bull Soc Chim Fr* 2, 259–267
- 12 Derrysshire DH, Waters WA (1950) *J Chem Soc (Lond)* 573