

Article original

Synthèse et activité anti-bactérienne d'acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxyliques-5

Jacques BOMPART¹, Louis GIRAL^{1*}, Gilles MALICORNE¹ et Marc PUYGRENIER²

¹Laboratoire de Chimie Organique Structurale, U.S.T.L., pl. E. Bataillon, 34060 Montpellier cedex, et

²Sanofi Recherches, av. Prof. Blayac, 34082 Montpellier cedex, France

(Reçu le 18 juin 1986, accepté le 9 décembre 1986)

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 activities of new 4,7-dihydro 7-ethyl 4-oxo (2,3-b)thieno pyridine 5-carboxylic acids. The synthesis of some new 4,7-dihydro 7-ethyl 4-oxo (2,3-b)thieno pyridine 5-carboxylic acids with various substituents on position 2 is described. The evaluation of the anti-bacterial activity of some compounds shows an equivalent activity like nalidixic acid.

(2,3-b) thieno pyridines / anti-bacterial activity

Introduction

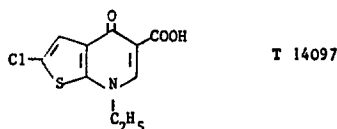
Si l'étude et la synthèse de quinolones ont fait l'objet de nombreuses publications et brevets, l'arrivée de nouveaux composés dans ce domaine qui offrirait la possibilité de traiter des infections systématiques sévères constitueraient une réelle nouveauté.

L'acide nalidixique qui est le chef de file de cette famille est actif sur la plupart des germes à gram négatif mais inactif sur de nombreux germes à gram positif.

De plus, lors des traitements il a été observé l'apparition de germes résistants. Avec les produits de seconde génération tels que l'acide oxolinique, la fluméquine et la rosoxacin de meilleures activités *in vitro* ont été obtenues. Mais, ces molécules sont métabolisées rapidement, et les activités *in vivo* restent faibles.

La troisième génération de composés péfloxacin, norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, sont de loin les meilleures [1, 2]. Ces produits présentent un spectre élargi et de meilleures propriétés pharmacologiques.

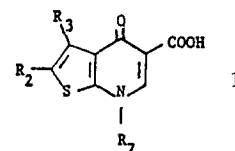
Parmi les molécules moins développées, on note le T 14097 de Takeda [3, 4] dont la formule est reportée ci-dessous:



Des études de l'activité anti-bactérienne *in vivo* et *in vitro* [3, 4] il résulte que ce composé se situe entre l'acide nalidixique et l'acide oxolinique en ce qui concerne les germes aérobies à gram négatif. Mais par contre les taux plasmatiques et tissulaires trouvés chez l'animal sont très élevés, nettement supérieurs à ceux trouvés pour l'acide oxolinique.

Les activités obtenues *in vivo* montrent que les doses efficaces 50% (DE_{50}) vis-à-vis d'*E. coli* chez la souris sont du même ordre de grandeur que celle trouvée avec l'acide oxolinique.

A côté des travaux réalisés par la Société Takeda au Japon, des recherches ont été effectuées par P. M. Gilis *et al.* [5—7]. Ces auteurs ont étudié l'influence de la substitution sur les positions 2, 3, 6 et 7 du noyau d'acide dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxylique-5. Ils ont trouvé en particulier que le composé dans lequel $R_7 = -C_2H_5$, $R_3 = -H$ et $R_2 = -CH_3$ présentait une activité anti-bactérienne comparable à celle de l'acide nalidixique. D'autres études ont également été réalisées par la Société Schering AG [8].

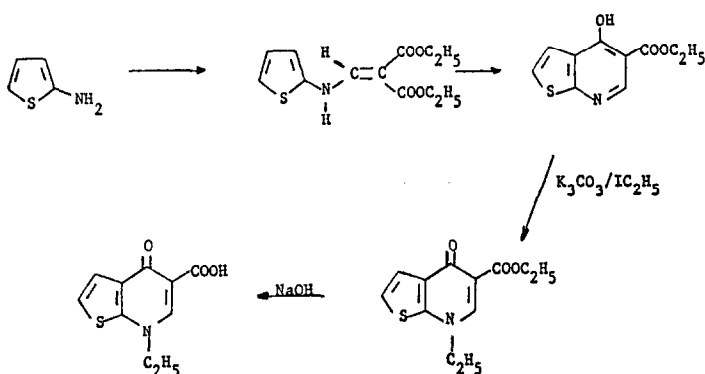


* Auteur à qui la correspondance doit être adressée.

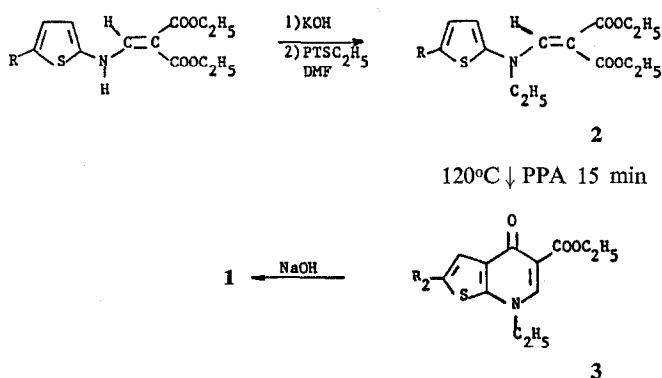
En fait à la lecture de ces différents travaux on s'aperçoit que peu de substituants ont été placés sur le cycle thiophénique. Compte tenu de l'intérêt que pouvaient présenter ces molécules, nous avons envisagé une étude systématique de substituants en position 2 le groupement en 7 étant dans cette publication le groupement éthyle. Ce travail décrit les premiers résultats.

Chimie

Un mode de synthèse de l'acide dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxylique-5 $R_2 = -H$ a été décrit par Gilis et coll. [6, 7]. Le mode opératoire suivi est rappelé ci-dessous. La cyclisation du *N*(thiényl-2) aminométhylène malonate de diéthyle est réalisée dans le diphenyl éther à 250°C. Puis le dérivé obtenu est alkylé, ensuite hydrolysé par la soude.



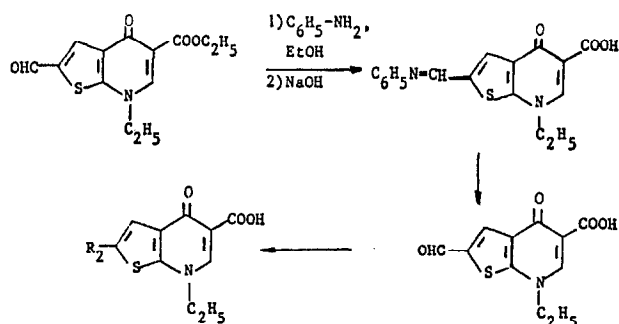
Les problèmes posés par la cyclisation abaissent considérablement les rendements. Afin d'atteindre les produits que nous désirions et après différents essais, nous avons préféré alkyler l'atome d'azote avant de réaliser la cyclisation et effectuer cette dernière réaction en présence d'acide polyphosphorique (PPA) selon le schéma indiqué ci-dessous.



Le sel de potassium est tout d'abord isolé, puis dissous dans le DMF et mis en réaction avec le *paratoluène* sulfonate d'éthyle. Le rendement global en produit *N*-alkylé atteint 70%. L'hydrolyse de 3 en 1 est réalisée avec une solution de soude dans l'éthanol-eau, pH = 12.

En utilisant ce mode opératoire, nous avons obtenu les composés pour lesquels $R_2 = -H$, $-CH_3$.

La synthèse du composé pour lequel $R_2 = -CHO$ n'a pu être réalisée à partir du composé pour lequel $R_2 = -H$. La réaction de Vilsmeier-Haack sur ce dernier produit ne conduit pas au résultat attendu. Par contre la formylation de 2 $R_2 = -H$ selon la méthode de Meth-Collm et Narine [9] qui utilise un mélange de $POCl_3$ -DMF s'effectue avec de bons rendements. Si l'obtention du dérivé cyclisé 3 n'a pas posé de problèmes, l'hydrolyse de la fonction ester par la soude n'a pu être réalisée qu'après avoir condensé l'aldéhyde 3 $R_2 = -CHO$ avec l'aniline. L'hydrolyse en milieu acide de la base de Schiff permet de régénérer la fonction aldéhyde.



$R_2 = -COOH$, $-CH_2OH$, $-CH=N-OH$, $-C \equiv N$

La réduction et l'oxydation de l'aldéhyde ont permis d'obtenir les composés pour lesquels $R_2 = -CH_2OH$, $R_2 = -COOH$. Les thiénoypyridines pour lesquelles $R_2 = -CH=N-OH$ et $-C \equiv N$ ont été préparées en formant l'oxime de l'aldéhyde 3 $R_2 = -CHO$ contenant la fonction ester, l'oxime est déshydratée et on obtient le nitrile.

L'hydrolyse des esters dans les deux cas a été réalisée sans trop de problèmes. L'étude RMN nous a permis de préciser que les stéréoisomères du composé pour lequel $R_2 = -CH=N-OH$ sont en quantités égales.

Le dérivé bromé $R_2 = -Br$ a été isolé à partir de l'action du brome dans la pyridine sur le composé 2 $R_2 = -H$, suivi de l'hydrolyse de la fonction ester. Le dérivé iodé $R_2 = -I$ est obtenu par action de l'iode en présence d'oxyde mercurique sur le dérivé 2. La cyclisation de ces dérivés est effectuée dans l'acide polyphosphorique.

Les autres composés synthétisés reportés dans le Tableau I ont été préparés à partir de la thiénoypyridine pour laquelle $R_2 = -H$.

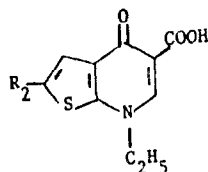
Par action d'un mélange acide nitrique-acide sulfurique sur 1 $R_2 = -H$, on obtient le dérivé $R_2 = -NO_2$ avec un rendement de 80%. La réduction de ce dérivé par le fer en poudre dans un mélange acide acétique-anhydride acétique conduit au dérivé $R_2 = -NHCO-CH_3$ attendu.

Enfin la chlorosulfonation selon Buzas [10] de 1 $R_2 = -H$ conduit à l'acide $R_2 = -SO_2NH_2$.

L'ensemble des composés synthétisés ainsi que leurs caractéristiques sont reportés dans le Tableau I.

Les composés pour lesquels $R_2 = -CN$, $-CHO$, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-SO_2NH_2$, $-NHCOCH_3$, $-HC=N-C_6H_5$ 100% *anti*, $-HC=N-OH$ 50% *syn*,

Tableau I. Caractéristiques physicochimiques et déplacements chimiques (appareil Varian EM 390) des signaux des hydrogènes en ppm des acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxyliques-5.



R ₂	Formule brute	PF°C	Solvant de cristallisation	Bandes caractéristiques IR (KBr)	RMN DMSO-d ₆ ; VARIAN EM 390
H	C ₁₀ H ₉ NO ₃ S	270	DMF - EtOH	1720 - 1620 - 1500	1,4(t) 4,4(q) 8,3(d) H ₃ 9,0(s) H ₆ 7,5(d) H ₂
CH ₃	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃ S	229-230	DMF	1710 - 1610 - 1500	1,4(t) 4,4(q) 8,0(s) H ₃ 9,2(s) H ₆ 2,6(s) CH ₃
I	C ₁₀ H ₈ INO ₃ S	243-246	DMF - EtOH	1730 - 1610 - 1480	1,4(t) 4,4(q) 8,1(s) H ₃ 8,6(s) H ₆
Br	C ₁₀ H ₈ BrNO ₃ S	205-207	DMF	1730 - 1620 - 1500	1,4(t) 4,4(q) 8,1(s) H ₃ 8,5(s) H ₆
CN	C ₁₁ H ₈ N ₂ O ₃ S	255	DMF - EtOH	2210 - 1730 - 1620	1,4(t) 4,5(q) 8,2(s) H ₃ 8,7(s) H ₆
CHO	C ₁₁ H ₉ NO ₄ S	255-260	EtOH	1730 - 1680 - 1610 - 1540	1,5(t) 4,4(q) 8,5(s) H ₃ 9,0(s) H ₆ 10,1(s) CHO
CH ₂ OH	C ₁₁ H ₁₁ NO ₄ S	260	EtOH	1740 - 1620	1,5(t) 4,4(q) 8,0(s) H ₃ 8,8(s) H ₆ 4,6(s) CH ₂ OH
COOH	C ₁₁ H ₉ NO ₅ S	284-286	EtOH	1730 - 1700 - 1610 - 1550	1,5(t) 4,4(q) 8,0(s) H ₃ 9,1(s) H ₆
SO ₂ NH ₂	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₅ S ₂	294-296	DMF - EtOH	1710 - 1600 - 1530	1,4(t) 4,4(q) 8,2(s) H ₃ 8,8(s) H ₆
NO ₂	C ₁₀ H ₈ N ₂ O ₅ S	278-279	EtOH	1730 - 1610 - 1540	1,5(t) 4,4(q) 8,6(s) H ₃ 8,8(s) H ₆
NH-COCH ₃	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	> 330	DMF	1720 - 1610 - 1580 - 1480	1,4(t) 4,4(q) 8,2(s) H ₃ 8,9(s) H ₆ 1,8(s) CH ₃
CH=N-C ₆ H ₅	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	270-272	EtOH	1710 - 1610 - 1500	1,5(t) 4,5(q) 8,1(s) H ₃ 8,9(s) H ₆ 8,4(s) CH=N anti 7,5 (m)
CH=N-OH	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	325-327	DMF	1770 - 1730 - 1610	1,5(t) 4,4(q) 7,6 anti(s) 7,8 syn (s) H ₃ 8,4 anti (CH=N) 8,0 syn (CH=N) 11,5 (s) 8,8 anti(s) 8,9 syn(s) H ₆

50% *anti* sont originaux [11], ceux pour lesquels: R₂ = —H, —CH₃, —I, —Br [12] —NO₂ [13] ont été décrits. Nous les avons synthétisés à des fins de comparaison sur les mêmes souches de bactéries.

Dans les Tableaux II et III nous avons reporté les caractéristiques physicochimiques et les déplacements chimiques des différents dérivés intermédiaires **2** et **3** synthétisés.

Résultats et Discussion

L'évaluation de l'activité anti-bactérienne *in vitro* des 13 acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxyliques-5 a été faite par une détermination de concentration minima inhibitrice (CMI) en milieu solide vis-à-vis d'une vingtaine de souches bactériennes couvrant un grand nombre d'espèces.

Les CMI ont été déterminées sur milieu gélosé de Mueller Hinton, pH 7,4, par la méthode des dilutions sériées uti-

lisant un inoculum bactérien de 10⁴ unités, formant colonies, déposé sur le milieu gélosé.

Cette évaluation a été réalisée par rapport à quatre produits de référence, il s'agit: de l'acide chloro-2 dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxylique-5 **1** R₂ = —Cl fourni par la Société Takeda, de l'acide nalidixique (NA), de l'acide oxolinique (OA) et de la fluméquine (F). Les concentrations minima inhibitrices (CMI) en µg/ml de ces différents composés sont regroupées dans le Tableau IV.

Les résultats montrent que sans atteindre l'activité du dérivé pour lequel R₂ = —Cl, les composés R₂ = —CH=N—OH et R₂ = —CH=N—C₆H₅ présentent des activités intéressantes. Ces deux groupements peuvent faire l'objet d'une recherche ultérieure. Lorsque R₂ = —CHO on remarque, par rapport aux deux dérivés précédents, une diminution sensible de l'activité. Cette activité disparaît totalement lorsque la fonction aldéhyde est réduite en alcool ou oxydée en acide. Aucune activité n'est constatée pour des groupements attracteurs tels que R₂ = —CN,

Tableau II. Caractéristiques physicochimiques et déplacements chimiques (appareil Brucker CW 80) des signaux des hydrogènes (CDCl_3) des dérivés 2.

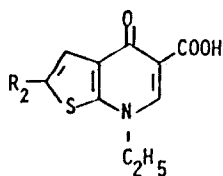
R_2	PF°C	C.C.M.		Déplacements chimiques δ (ppm)					
		Eluant	R_f	COOC_2H_5		$\text{N-C}_2\text{H}_5$		CH (s)	Thiényl
				CH_3 (t)	CH_2 (q)	CH_3 (t)	CH_2 (q)		
H	41—42	CHCl_3 6	0,74	1,2	4,0	1,2	3,6	7,5	6,8 (m)
		Ether 4							
CH_3	48	CHCl_3 8	0,83	1,2	4,0	1,2	3,6	7,5	6,5 (s)
		Ether 2							
I	70—72	CH_2Cl_2 9	0,30	1,2	4,0	1,2	3,6	7,5	6,4 H_3
		Ether 1							7,05 H_4
Br	60—62	CH_2Cl_2 9	0,35	1,25	4,1	1,25	3,5	7,4	6,45 H_3
		Ether 1							6,90 H_4
CHO	66—68	CHCl_3 6	0,75	1,25	4,2	1,25	3,8	7,6	6,6 H_3
		Ether 4							7,4 H_4

Tableau III. Caractéristiques physicochimiques et déplacements chimiques (appareil Brucker CW 80) des signaux des hydrogènes des dérivés 3.

R_2	Rdt (%)	PF°C	C. C. M.		Déplacements chimiques δ (ppm)							
			Eluant	R_f	Solvant	COOC_2H_5		$\text{N-C}_2\text{H}_5$		H_3 (s)	H_6 (s)	R_2
						CH_3 (t)	CH_2 (q)	CH_3 (t)	CH_2 (q)			
H	80	151—153	CHCl_3 19	0,6	A	1,6	4,3	1,4	4,1	7,0	8,3	7,5 (d)
			EtOH 1									
CH_3	70	130—132	CHCl_3 19	0,65	A	1,6	4,3	1,4	4,1	7,5	8,2	2,2 (s)
			EtOH 1									
I	75	185—187	CHCl_3 19	0,80	A	1,7	4,3	1,4	4,0	7,7	8,2	
			EtOH 1									
Br	75	170—172	CHCl_3 19	0,80	A	1,6	4,3	1,4	4,0	7,5	8,1	
			EtOH 1									
CHO	65	205	CHCl_3 18	0,68	A	1,6	4,4	1,4	4,1	8,2	8,3	9,9 (s)
			EtOH 2									
$\text{CH}=\text{H}-\text{OH}$ <i>anti</i>	43	288—290	CHCl_3 18	0,43	B	1,4	4,2	1,3	4,2	7,7	8,6	8,5 (s)
			EtOH 2									
$\text{CH}=\text{N}-\text{OH}$ <i>syn</i>	42	315—318	CHCl_3 18	0,36	B	1,4	4,2	1,3	4,2	7,8	8,7	7,9 (s)
			DMF 2									
CN	93	184—185	CHCl_3 19	0,85	A	1,6	4,4	1,4	4,1	8,1	8,4	
			EtOH 1									
$\text{CH}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_5$	95	208—210	CHCl_3 19	0,60	A	1,6	4,3	1,4	4,2	7,95	8,6	8,35 (CH <i>anti</i>)
			EtOH 1									7,3 (m)

(A: CDCl_3 ; B: $\text{DMSO}-d_6$).

Tableau IV. Concentrations minima inhibitrices en $\mu\text{g/ml}$ des différentes thiéno(2,3-b)pyridines et des acides nalidixique (NA) et oxolonique (OA) ainsi que de la fluméquine (F).



SOUCHES \ R ₂	Br	I	CH ₃	CHO	CH	NH CO CH ₃	SO ₂ NH ₂	H	CH ₂ OH	COOH	NO ₂	CH N OH	CH N Ø	Cl	NA	OA	F
<i>Staphylococcus aureus</i> 53154 IP	12,5	12,5	>	>	>	>	>	>	>	>	50	25	>	25	>	1,56	3,12
<i>Streptococcus faecalis</i> 5855 IP	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	50	>
<i>Escherichia coli</i> 54127 IP	3,12	6,25	3,12	12,5	>	>	>	>	>	>	>	3,12	3,12	1,56	3,12	0,4	0,8
<i>Escherichia coli</i> SOL RL 90	3,12	3,12	3,12	12,5	>	>	>	>	>	>	>	6,25	6,25	1,56	3,12	0,4	0,8
<i>Citrobacter freundii</i> GN 346	3,12	6,25	3,12	25	>	>	>	>	>	>	100	6,25	12,5	0,8	3,12	0,2	0,8
<i>Proteus vulgaris</i> RL 99 BIS	0,4	0,8	1,56	6,25	>	>	>	>	>	>	3,12	1,56	3,12	0,4	3,12	0,1	0,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 21100	0,8	0,4	1,56	25	>	>	>	>	>	>	6,25	1,56	12,5	0,8	1,56	0,1	0,4
<i>Proteus morganii</i> 1510	0,4	0,8	0,8	3,12	>	>	>	>	50	>	1,56	1,56	3,12	0,4	3,12	0,1	0,2
<i>Providencia stuartii</i> 5152	1,56	1,56	1,56	12,5	>	>	>	>	>	>	12,5	6,25	12,5	0,8	6,25	0,2	0,8
<i>Serratia liquefaciens</i> 376	100	100	>	>	>	>	>	>	>	>	100	100	>	>	>	6,25	25
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 10031	0,8	0,8	1,56	25	>	>	>	>	>	>	100	1,56	50	0,8	0,8	0,1	0,1
<i>Klebsiella pneumonia</i> R 30	1,56	3,12	1,56	>	>	>	>	>	>	>	>	6,25	25	0,8	3,12	0,2	0,4
<i>Enterobacter cloacae</i> P 99	3,12	6,25	3,12	25	>	>	>	>	>	>	>	6,25	50	0,8	3,12	0,2	0,4
<i>Enterobacter hafniae</i> R 046	1,56	3,12	3,12	100	>	>	>	>	>	>	6,25	1,56	3,12	0,8	3,12	0,2	0,4
<i>Salmonella typhimurium</i> A 222 IP	3,12	6,25	6,25	25	>	>	>	>	>	>	>	6,25	6,25	6,25	6,25	0,8	1,56
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 6539	3,12	12,5	6,25	12,5	>	>	>	>	>	>	100	6,25	25	3,12	6,25	0,4	0,8
<i>Shigella sonnei</i> R 018	1,56	3,12	1,56	3,12	>	>	>	>	50	>	25	1,56	3,12	0,4	1,56	0,1	0,4
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617	12,5	25	25	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	12,5	12,5	6,25	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> A22 IP	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	3,12	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8203	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	>	50	>	>	>	6,25	25

(> signifie: CMI > 100 $\mu\text{g/ml}$).

et $R_2 = -\text{NO}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$. Il en est de même pour le groupement $R_2 = -\text{NHCOCH}_3$.

A partir de ces résultats, il est difficile de définir une relation quelconque entre la nature des groupements et l'activité de la molécule résultante. Des études doivent être entreprises afin de développer la voie ouverte par les bons résultats observés pour les molécules possédant la fonction oxime ou la base de Schiff.

Protocoles expérimentaux

Indications générales

Les points de fusion, non corrigés, ont été déterminés en capillaires à l'aide de l'appareil du Dr. Tottoli. Les temps de rétention, R_f , ont été déterminés sur plaque de silicagel Merck 60 F 254, la révélation étant effectuée à l'aide d'une lampe à rayons ultraviolets; l'éluant est précisé dans chaque cas. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre 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 TMS pris comme référence interne. Ils sont exprimés en partie par million (ppm).

Dans la description des spectres, les symboles suivants ont été utilisés: s: singulet; d: doublet; t: triplet; q: quadruplet; m: massif. Les microanalyses des produits finaux ont été effectuées par le Centre de Microanalyse du CNRS de Lyon. Nous ne reportons pas les résultats car ceux-ci étaient pour chaque produit en accord avec sa formule brute.

Synthèse chimique

Préparation des N-éthyl N-(thiényl-2) aminométhylénemalonate de diéthyle 2

Préparation de 2: $R_5 = -\text{H}$; $-\text{CH}_3$

Mode général de synthèse. 18 g (0,067 mol) de N-(thiényl-2) aminométhylénemalonate de diéthyle sont dissous dans 600 cc d'acétone. A cette solution on ajoute 4,2 g (0,073 mol) de KOH finement pilée et on porte au reflux pendant 3 h, dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'une agitation magnétique.

Au fur et à mesure de l'avancement de la réaction, un précipité blanc se forme, après refroidissement, le précipité est filtré, lavé à l'éther et séché.

Le rendement de la réaction est vérifié par décomposition d'une quantité connue de précipité dans un mélange chloroforme—eau. La phase organique est extraite, séchée au sulfate de sodium, évaporée à sec. Le résidu est pesé, rendement: 85 %.

Le précipité obtenu est mis dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique, avec une quantité équimoléculaire de paratoluène sulfonate d'éthyle dans le diméthylformamide (DMF) (pour 44 g de sel on utilise 29 g de paratoluène sulfonate d'éthyle et 400 cc de DMF). La solution obtenue est chauffée au reflux du DMF pendant 10 h.

Après refroidissement à température ambiante le DMF est évaporé à sec. Le résidu est repris dans 1,5 l d'hexane chaud, filtré pour éliminer le paratoluène sulfonate de potassium formé. La solution obtenue est mise au congélateur. Par filtration, on recueille 21 g du dérivé 2 $R_5 = \text{H}$.

Préparation de 2: $R_5 = -\text{I}$; $-\text{Br}$; $-\text{CHO}$

Synthèse du dérivé 2: $R_5 = -\text{I}$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on met 2 g (0,0067 mol) de N-éthyl N-(thiényl-2) aminométhylénemalonate de diéthyle, 0,85 g (0,0067 mol) d'iode et 1,45 g (0,0067 mol) d'oxyde mercurique dans 25 ml de chloroforme. La solution est agitée énergiquement à température ambiante pendant 3 h.

La solution est filtrée, lavée avec une solution à 5 % d'iodure de potassium dans l'eau, rincée à l'eau puis concentrée à sec sous pression réduite.

Le dérivé iodé 2 $R_5 = -\text{I}$ est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice 60 (éluant chlorure de méthylène). On recueille ainsi 1 g de 2 $R_5 = -\text{I}$.

Synthèse du dérivé 2: $R_5 = -\text{Br}$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on place 3 g (0,067 mol) de N-éthyl N-(thiényl-2) aminométhylénemalonate de diéthyle, 45 cc de chloroforme et 3 cc de pyridine. Par l'intermédiaire d'une ampoule à brome, on ajoute lentement 0,4 cc de brome. La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant 15 min.

Le mélange réactionnel est lavé à l'acide chlorhydrique dilué, puis avec une solution diluée de NaHCO_3 , puis à l'eau. La phase chloroformique est séchée sur Na_2CO_3 , évaporée à sec.

Le dérivé bromé 2 $R_5 = -\text{Br}$ est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice 60 (éluant: chlorure de méthylène). On recueille ainsi 1,5 g du dérivé 2 $R_5 = -\text{Br}$.

Synthèse du dérivé 2 $R_5 = -\text{CHO}$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant, d'un agitateur magnétique et d'une ampoule à brome on introduit 3 cc de DMF (0,039 mol) et 20 cc de 1,2-dichloroéthane. A cette solution on ajoute lentement 1,6 cc de POCl_3 (0,017 mol). L'agitation est maintenue pendant 30 min. Au mélange de Vilsmeier, on ajoute goutte à goutte 5 g de 2 $R_5 = -\text{H}$ (0,017 mol) dissous dans 20 cc de 1,2 dichloroéthane et on laisse sous agitation pendant 2 h. Le mélange réactionnel est décomposé par 100 g de glace contenant 10 g d'acétate de sodium. La solution obtenue est neutralisée avec une solution de soude diluée et laissée à température ambiante sous forte agitation pendant une nuit.

La solution est extraite au 1,2-dichloroéthane, la phase organique est lavée à l'eau, séchée, évaporée à sec. Le résidu est repris à l'hexane chaud, et laissé à température ambiante, le précipité qui se forme rapidement est filtré, séché au dessiccateur. On recueille ainsi 3,8 g du dérivé formylé 2 $R_5 = -\text{CHO}$ attendu.

Synthèse des dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxylates-5 d'éthyle substitués en 2 3

Préparation par cyclisation des dérivés 2 dans l'acide polyphosphorique 3 $R_2 = -\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{I}$, $-\text{Br}$, $-\text{CHO}$

Mode général de synthèse. Exemple de cyclisation avec le dérivé 2 $R_5 = -\text{CHO}$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un agitateur magnétique et surmonté d'une garde à chlorure de calcium, on met 15 g d'acide polyphosphorique. Le mélange réactionnel est chauffé à 120°C dans un bain d'huile. Lorsque la température du bain d'huile est stable à 120°C on ajoute en une seule fois 1,3 g (4 mmol) de N-éthyl N-(formyl-5 thiényl-2) aminométhylénemalonate de diéthyle (2 $R_5 = -\text{CHO}$). L'agitation est maintenue à 120°C pendant 20 min.

Après refroidissement du mélange, on ajoute 100 cc d'eau glacée par petites portions afin d'éviter une réaction violente. La solution est triturée pour obtenir une bonne homogénéisation, puis neutralisée au carbonate de sodium, extraite au chloroforme (3 fois 100 ml). Les phases organiques sont combinées, séchées et évaporées à sec. Le résidu sec obtenu est repris avec 200 ml d'éthanol chaud et agité au reflux avec 4 g de charbon actif pendant une nuit.

Après refroidissement de la solution alcoolique, le charbon actif est éliminé par filtration sur célite. Le filtrat est évaporé à sec.

On recueille ainsi 0,8 g d'un produit jaune orangé qui recristallise dans l'acool.

Préparation à partir d'un dérivé 3

Synthèse du dérivé 3 $R_2 = -\text{CH}=\text{N}-\text{OH}$. Dans un erlenmeyer muni d'un agitateur magnétique on met 0,5 g (1,8 mmol) de dihydro-4,7 éthyl-7 formyl-2 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxylate-5 d'éthyle 3 $R_2 = -\text{CHO}$ que l'on dissout par chauffage dans 50 cc d'éthanol. La solution obtenue est refroidie à température ambiante. On ajoute alors 0,13 g (1,9 mmol) de chlorhydrate d'hydroxylamine, puis la solution est neutralisée à la soude diluée. L'agitation est maintenue pendant 1 h, puis la solution est placée au froid (-20°C) pendant 2 h. Le précipité qui s'est formé est recueilli par filtration puis séché dans un dessiccateur. On obtient 0,45 g d'un produit montrant 2 spots en chromatographie en couche mince (CCM). Il s'agit du mélange des deux isomères *syn* et *anti* de l'oxime.

L'isomère *anti* est obtenue pur par recristallisation du mélange dans le DMF, la solution étant laissée à température de la pièce. L'isomère *syn* précipite dans une solution de DMF placée au congélateur.

Synthèse du dérivé 3 $R_2 = -CN$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on place 0,4 g (1,36 mmol) du dérivé 3 $R_2 = -CH=N-OH$ et 10 cc d'anhydride acétique. La solution est chauffée au reflux pendant 2 h.

L'anhydride acétique est évaporé à sec sous vide. Le résidu est repris dans de l'éthanol chaud et mis au congélateur. On recueille ainsi par filtration sur verre fritté 0,35 g du dérivé 3 $R_2 = -CN$ attendu.

Préparation des acides dihydro-4,7 éthyl-7 oxo-4 thiéno(2,3-b)pyridine carboxyliques-5 1

La pureté des produits 1 obtenus, par les différentes méthodes que nous allons détailler, a été vérifiée par HPLC sur colonne Lichrosorb RP-18 (7 μ). La phase mobile est constituée 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 avec une solution 1 N de soude. A cette solution 55 % méthanol, 45 % tampon 8,2 est ajouté du bromure de *N,N,N*-triméthyl *N*-cétyle ammonium à raison de 2 g/l de solvant.

L'appareil de chromatographie utilisé est un Varian 5000, la détection est faite par UV sur UV 50 Varian à 254 nm.

Préparation des acides par hydrolyse basique des esters éthyliques 3: $R_2 = -H$, $-CH_3$, $-I$, $-Br$, $-CH=N-OH$, $-CN$, $-CH=C_6H_5$

Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on met 1,4 mmol du dérivé 3 dissous dans 10 cc d'alcool. A cette solution on ajoute 40 cc d'une solution 0,1 N de soude. La solution est agitée à température ambiante puis neutralisée à l'acide chlorhydrique dilué.

Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'eau, à l'alcool, à l'éther et le produit est séché dans un dessiccateur.

Préparation particulière des acides 1: $R_2 = -CHO$, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-SO_2NH_2$, $-NO_2$, $-NHCOCH_3$

1 $R_2 = -CHO$. Dans un erlenmeyer muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on place 1,0 g (2,8 mmol) du dérivé 3 $R_2 = -CH=N-C_6H_5$ dans 30 cc d'alcool et 20 cc de solution de NaOH 0,5 N. Le mélange est chauffé jusqu'à solubilisation puis ramené à température ambiante et agité pendant 2 h.

A cette solution on ajoute de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à pH = 1 et on laisse sous forte agitation pendant 2 h. Le précipité qui s'est formé est recueilli par filtration, lavé à l'alcool, à l'éther puis séché dans un dessiccateur.

1 $R_2 = -CH_2OH$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique on place 1,68 mmol d'acide 1 $R_2 = -CHO$ et 20 cc de NaOH 0,5 N. La solution est portée au reflux pendant 30 min.

Après refroidissement, la solution est amenée à pH = 0,80 avec une solution d'acide chlorhydrique dilué, extraite plusieurs fois (4 fois 20 ml) au chloroforme. Les phases organiques sont combinées, séchées avec du sulfate de sodium anhydre et évaporées à sec. Le résidu cristallin est repris à l'alcool chaud et la solution est mise au congélateur. Par filtration, on recueille 0,7 mmol du dérivé 1 $R_2 = -CH_2OH$.

1 $R_2 = -COOH$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un agitateur magnétique et d'un réfrigérant on met 0,5 g de 1 $R_2 = -CHO$ (2,0 mmol) dissous dans 20 cc d'eau contenant 120 mg de NaOH. La solution est chauffée à 35–40°C. On y ajoute lentement 0,4 g de $KMnO_4$ (2,5 mmol) dans 30 cc d'eau. L'agitation est maintenue à la même température pendant 1 h.

La solution est refroidie, acidifiée à l'acide chlorhydrique dilué. Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'alcool, séché dans un dessiccateur. On recueille ainsi 0,4 g du dérivé 1 $R_2 = -COOH$ (rendement: 75 %).

1 $R_2 = -SO_2NH_2$. Dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique en verre, on place 0,5 g d'acide 1 $R_2 = -H$ (2,25 mmol) et 10 cc de chlorhydrate sulfurique. La solution est chauffée à 100–110°C pendant 1 h.

Après refroidissement de la solution à température ambiante, la solution est versée sur 100 g de glace pilée. Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'eau et séché dans un dessiccateur.

Ce précipité est mis dans un erlenmeyer rodé muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique avec 25 ml d'ammoniaque à 33 %. La solution obtenue est chauffée à 50°C pendant 1 h. Après refroidissement du mélange réactionnel, on ajoute de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à neutralité.

Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'eau, séché dans un dessiccateur. On recueille ainsi 0,38 g du dérivé 1 $R_2 = -SO_2NH_2$ attendu qui est ensuite recristallisé dans un mélange DMF alcool (rendement: 56 %).

1 $R_2 = -NO_2$. Dans un erlenmeyer muni d'un agitateur magnétique, on place 1,6 g de 1 (7,17 mmol) et 15 cc d'acide sulfurique, la solution est refroidie à 0°C et on y ajoute lentement 0,5 g d' HNO_3 fumant puis on laisse à température ambiante pendant 1 h.

Le mélange réactionnel est versé sur 50 g de glace pilée. Le précipité qui se forme est filtré, lavé à l'eau, séché dans un dessiccateur. On recueille ainsi 1,6 g du dérivé 1 $R_2 = -NO_2$ avec un rendement de 83 %.

1 $R_2 = -NHCOCH_3$. Dans un erlenmeyer muni d'un agitateur magnétique, on place 0,6 g (0,0022 mol) de 1 $R_2 = -NO_2$ avec 10 cc d'acide acétique, 2 cc d'anhydride acétique et 0,4 g de fer en poudre. La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant 2 h. A cette solution, on ajoute 20 cc d'eau et on filtre sur papier, le filtrat est évaporé à sec. Le résidu est repris par 10 cc de diméthyle sulfoxyde chaud. A cette solution on ajoute 10 cc d'alcool et on laisse à température ambiante. Le précipité qui se forme est filtré sur verre fritté, lavé à l'alcool puis à l'éther, séché dans un dessiccateur. On obtient ainsi 0,4 g d'un produit cristallin rouge qui est le dérivé 1 $R_2 = -NHCOCH_3$ (rendement: 48 %).

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 enseigneur multiple.

Une gamme de concentrations de 100 à 0,05 μ g/ml a été utilisée en partant de solutions mères titrant à 1000 μ 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

- Moreau N., Badet B., Cerceau C. & Le Goffic F. (1982) *Chémiothérapie* 1, 445–450
- Moreau N. (1985) in: *Actual. Chim. Ther.*, 12^e série, Edifor, Paris, p. 239
- Kuwada Y., Meguro K., Sato Y. & Fugano T. Brevet Allemand, 2.435.025, 6 Fév. 1975 (*Chem. Abstr.* 1975, 82.156252m)
- Toshiyuki Y., Yukio M., Katsumi M. & Itaru S. (1983) *Takeda Kenkushoho*, 42, 297–307
- Gilis P. M., Haemers A. & Pattyn S. R. (1978) *Antimicrob. Agents Chem.* 13, 533
- Gilis P. M., Haemers A. & Pattyn S. R. (1978) *Eur. J. Med. Chem.* 13, 265
- Gilis P. M., Haemers A. & Pattyn S. R. (1980) *Eur. J. Med. Chem.* 15, 185
- Blaskiewicz P., Vorbruggen H. & Kessler H. Brevet Allemand 2447477, 15.04.1976 (*Chem. Abstr.* 1977, 87.168100c)
- Meth-Cohn O. & Narine B. (1980) *Synthesis* 133
- Buzas A. & Teste J. (1960) *Bull. Soc. Chim.* 793–803
- Giral L., Bompard J. & Puygrenier M. Brevet Européen, 161235, 13.11.1985 (*Chem. Abstr.* 1986, 104.88515w)
- Takeda Chemical Industries, Brevet Belg. 817950, 22.01.1975 (*Chem. Abstr.* 1975, 82.156252m)
- Kuwada Y., Meguro K., Sato Y. & Fugano T. Takeda Chemical Industries Japan-Kokai 76, 100, 092 (*Chem. Abstr.* 1977, 86, 189900h)