

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF
FACULTE DES SCIENCES DE L'INGENIEUR
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES

MEMOIRE

Présenté par

BELHADDAD OUM ELKHEIR

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Thème

***Synthèse et caractérisation des dérivés quinazoliniques,
quinoxaliniques et évaluation de leurs propriétés antibactériennes.***

Soutenu le : 4 /7/ 2009

Devant le jury :

Président :	D. Benachour	Professeur	U.F.A.S. Sétif
Rapporteur :	M.Baitiche	Maître de conférences	U.F.A.S. Sétif
Examineurs :	D. Harzallah	Professeur	U.F.A.S. Sétif
	M. El-Kolli	Maître de conférences	U.F.A.S. Sétif

REMERCIEMENTS

Au terme de ce mémoire, je tiens à adresser mes remerciements à tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail au sein du Laboratoire "LMPMP" du département de génie des procédés de l'université Ferhat Abbas Sétif, mon laboratoire d'accueil.

Mes plus vifs remerciements vont à Dr M. Baitiche (Ep.Djrboua) qui m'a encadrée durant ces années. **Je vous remercie pour m'avoir donnée la chance de travailler avec vous sur un sujet aussi passionnant,** pour la qualité de votre encadrement, pour la confiance que vous m'avez accordée ainsi que pour les conseils que vous avez su me prodiguer. Votre enthousiasme, votre expérience et votre disponibilité ont été d'une aide considérable, votre écoute attentive, votre sympathie ont su désamorcer mes moments de stress au cours de ce travail. **Sans oublier les conseils que vous m'avez donnés tout au long de la rédaction, qui ont toujours été clairs, et m'ont facilité la tâche me permettant d'aboutir à la réalisation de ce mémoire.**

J'exprime ma profonde gratitude au Pr D. Benachour pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie très vivement Pr D. Harzaalleh Professeur au Département de biologie, pour avoir pris le temps de juger ce mémoire et m'avoir accueillie au sein de son équipe pour réaliser les tests biologiques.

Je tiens également à remercier Dr M. El-kolli d'avoir accepté de faire partie du jury de soutenance. Je tiens encore à lui exprimer ma profonde gratitude pour son aide, tous ses précieux conseils et pour ses encouragements.

J'aimerais également remercier, Mr Hani Belhadj du département de biologie pour ses conseils et son assistance lors de la réalisation des tests antibactériens.

Je tiens à remercier aussi énormément Dr F. Djrboua pour ses conseils et pour m'avoir aidée et orientée pour mener à bien ma recherche bibliographique.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents qui m'ont toujours encouragée et soutenue et sans qui je n'aurais pu aller au bout de mes projets. J'y associe également l'ensemble de mes amies et ma famille.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION..... I

CHAPITRE I : LES DERIVES DE LA QUINAZOLIN-4-OL

I.1 -Généralités sur les médicaments quinazoliniques	1
I.2-La quinazolin-4-ol	6
I.2.1 -Données bibliographiques sur le produit de départ	6
I.2.2-Synthèse de la 6-nitroquinazolin-4-ol.....	9
I.2.3-Alkylation de la 6-nitroquinazolin-4-ol.....	14
I.2.4- Partie expérimentale	19
I.2.4. A-Méthodes d'identification.....	19
I.2.4. B-Mode opératoire.....	20

CHAPITRE II : LES DERIVES DE LA QUINOXALIN-2-OL

II.1 -Généralités sur les médicaments quinoxaliniques.....	28
II.2 -La quinoxalin-2-ol	32
II.2.1 -Données bibliographiques sur le produit de départ.....	32
II.2.2-Synthèse de la 6-nitroquinoxalin-2-ol	36
II.2.3-Alkylation de la 6-nitroquinoxalin-2-ol	40
II.2.4- Partie expérimentale	48
II.2.4.A- Méthodes d'identification	48
II.2.4.B -Mode opératoire	48

CHAPITRE III : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

III.1- Les agents antibiotiques	53
III.1.1-Historique	53
III.1.2-Définition et mode d'action des antibiotiques	53
III.1.3-Mécanisme d'action des antibiotiques	54
III.1.3.A-Action sur la paroi bactérienne	54
III.1.3.B-Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique	57
III.1.3.C-Action sur la synthèse de l'ADN et de ses précurseurs	60
III.2 - Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	62
III.2.1- Historique et définition	62
III.2.2-Support génétique de la résistance	63
III.2.3- Résistance naturelle – Résistance acquise	64
III.2.4- Mécanisme de résistance.....	65
III.2. 4.1- L'inactivation enzymatique	66
III.2.4.2-La diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique	66
III.2.4.3-Excrétion de l'antibiotique par mécanisme d'efflux	67
III.2.4.4-Résistance par défaut d'affinité entre cible bactérienne et antibiotique...68	
III-3 : Evaluation des propriétés antibactériennes des composés préparés	69
III.3.1- Matériel	69
III.3.1. A- souches bactériennes utilisées.....	69
III.3.1.B-Antibiotique utilisé.....	69
III.3.1.B- Les molécules testées	70
III.3.2- Méthodes d'étude sur milieu solide	71
III.3.2.a-Cultures bactériennes	72

III.3.2.b-Préparation de la gamme de concentration de la substance	72
III.3.2.c-Méthode des disques en milieu solide.....	72
III.3.2.d- Méthode de diffusion en puits.....	72
III.3.3-Résultats et discussion des Tests Biologiques.....	73
CONCLUSION.....	76
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	78
ANNEXES	

LISTE DES ABREVIATIONS

Unités

C	degré Celsius
Hz, MHz	hertz, mégahertz
g	gramme
mg	milligramme
ml	millilitre
mmol	millimole

Autres

AcEt	Acétate d'éthyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ARNt	Acide ribonucléique transfert
ATP	Adénosine triphosphate
CCM	Chromatographie sur couche mince
CHCl₃	Chloroforme
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EP	Ether de pétrole
Fig	Figure
HIV	Le virus de l'immunodéficience humaine
FTIR	Infrarouge par transformée de Fourier

KBr	Bromure de potassium
K₂CO₃	Bicarbonate de potassium
MeOH	Méthanol
ppm	Partie par million
R_f	Rapport frontal (CCM)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
TA	température ambiante
UV-Vis	ultraviolet Visible

LISTE DE FIGURES

Fig.I.1 : Inhibition de la Pteridine réductase par CB3717	4
Fig.I.2 : Schéma montrant les différentes attaques électrophiles proposées sur le noyau aromatique de la quinazolin-4-ol.	10
Fig.I.3 : Spectres UV-Vis de la quinazolin-4-ol (a) et de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a)	11
Fig.I.4 : Spectre FTIR de la quinazolin-4-ol (a)	11
Fig.I.5: Spectre FTIR de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a)	12
Fig.I.6: Spectre RMN ¹ H de la quinazolin-4-ol (a)	12
Fig.I.7: Spectre RMN ¹ H de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a)	13
Fig. I.8 : Equation chimique montrant l'équilibre tautomère de la quinazolin-4-ol.....	14
Fig.I.9: Spectres UV-Vis de la 6-nitroquinazolin-4-ol et de la 3-Méthyl-6-nitroquinazolin-4-one	16
Fig.II.1 : Inhibition de la cyclin-dependent kinase par 2-hydroxyquinoxaline dérivative.....	30
Fig. II.2 : Schéma montrant les différentes attaques électrophiles sur le noyau aromatique de la quinoxalin-2-ol.....	37
Fig.II.3: Spectres UV-Vis de la quinoxalin-2-ol (b) et de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b)	38
Fig.II.4: Spectre FTIR de la quinoxalin-2-ol (b).....	38
Fig.II.5: Spectre FTIR de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b).....	39
Fig.II.6: Spectre RMN ¹ H de la quinoxalin-2-ol (b).....	39
Fig.II.7: Spectre RMN ¹ H de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b).....	40
Fig. II.8 : Equation chimique montrant l'équilibre tautomère dans la quinoxalin-2-ol.....	41
Fig.II.9: Spectre RMN ¹ H du mélange N-R et O-R.....	42
Fig.II.10: Spectres UV-Vis de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (b), O-R (3b) et du N-R (4b).....	40
Fig.II.11: Spectre FTIR du dérivé N-R.....	43
Fig.II.12: Spectre RMN ¹³ C du dérivé N-R.....	44

Fig.II.13: Spectre FTIR du dérivé O-R.	44
Fig.II.14: Spectre RMN ¹³ C du dérivé O-R.....	45
Fig.II.15: Spectre FTIR du dérivé O-Méthyl.....	46
Fig.II.16: Spectre RMN ¹ H du dérivé O-Méthyl.....	46
Fig.III.1 : Mode d'action des antibiotiques	54
Fig.III.2: Représentation schématique de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif.....	55
Fig.III.3: Biosynthèse de la paroi peptidoglycan montrant les sites d'action de cinq antibiotiques	56
Fig.III.4 : Différentes classes d'antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique	58
Fig.III.5 : Action d'un antibiotique sur la synthèse de l'ADN	60
Fig.III.6 : Mécanismes de résistance	65
Fig.III.7 : Exemple d'inactivation enzymatique	66
Fig.III.8 : Diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique	66
Fig.III.9 : Excrétion de l'antibiotique par mécanisme d'efflux	67
Fig.III.10 : Résistance par défaut d'affinité entre la cible bactérienne et l'antibiotique	68
Fig.III.11 : Illustration de la méthode de diffusion sur boîte Pétri.....	71

LISTE DE TABLEAUX

Tableau.I.1 : Dérivés de la 6-nitro quinazolin-4-ol préparés ainsi que leurs rendements.....16

Tableau.II.2 : Dérivés de la 6-nitro quinoxalin-2-ol préparés ainsi que leurs rendements...47

Tableau.III.1: Introduction de certains antibiotiques et découverte de l'apparition de leur résistance63

Tableau.III.2 : Liste des composés testés pour leur pouvoir antibactérien.....70

Tableau.III.3: Résultats des tests biologiques : activité antibactérienne73

INTRODUCTION

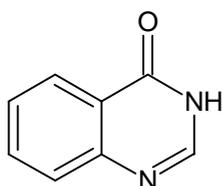
INTRODUCTION:

Les maladies infectieuses microbiennes demeurent d'importants problèmes de santé dans le monde entier et tuent des centaines de milliers de personnes chaque année, principalement dans les pays en voie de développement et particulièrement dans les régions telles que le sous-continent indien, l'Amérique du Sud et l'Afrique tropicale ^[1,2].

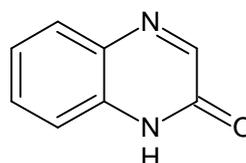
De nos jours, beaucoup d'antibiotiques sont connus, mais leur utilisation croissante tend à entraîner des situations de résistance. En effet, malgré tous les progrès réalisés en médecine, on observe une nette émergence et réémergence des maladies infectieuses dans les pays industrialisés. Les bactéries ont acquis la capacité de se défendre contre l'effet d'un antibiotique et beaucoup d'entre elles pathogènes, sont devenues résistantes à de nombreux traitements traditionnels.

Ce phénomène est en partie le résultat de l'utilisation abusive et non adaptée d'antibiotiques en médecine et plus particulièrement dans l'élevage industriel des animaux. L'antibiotique utilisé favorise les mutations naturelles induisant la résistance à l'antibiotique en question. Les spécialistes critiquent dans ce contexte la prescription parfois trop légère de certains antibiotiques. Le phénomène serait aussi amplifié par l'usage de doses trop faibles ou sur une durée trop courte. Par conséquent, la recherche de nouvelles armes anti-infectieuses s'avère nécessaire.

Dans cet objectif, nous nous sommes intéressés à une cible jusqu'à présent peu exploitée pour la mise au point de nouveaux antibiotiques, les *dérivés pyrimidiques (quinazoliniques)* et *pyraziniques (quinoxaliniques)* et plus précisément les dérivés de la quinazolin-4-ol (a) et de la quinoxalin-2-ol (b).



(a)



(b)

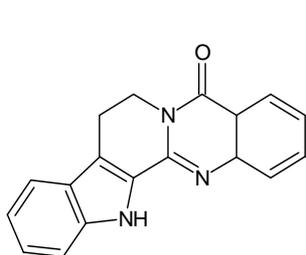
Nous rapportons donc successivement, dans ce mémoire, les voies de synthèse utilisées pour les dérivés de chacune de ces molécules, ainsi que les résultats de l'étude biologique ayant porté sur l'activité antibactérienne de ces composés.

CHAPITRE I
LES DERIVES DE LA QUINAZOLIN-4-OL

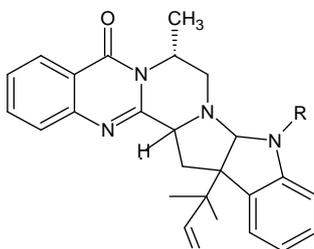
I.1- Généralités sur les médicaments quinazoliniques :

La quinazoline est un composé hétérocyclique formé par un noyau benzénique accolé à la pyrimidine. Il est présent dans de nombreux produits naturels biologiquement actifs. Depuis de nombreuses années, cette famille de molécules suscite l'intérêt des chimistes organiciens tant pour ses propriétés physico-chimiques que pour ses propriétés biologiques [3,4]. Des études récentes ont rapporté qu'une modification de la structure de la quinazoline pourrait donner des molécules à effet thérapeutique considérable, à savoir des anticonvulsivants, des antibactériens [5] et des antihistaminiques [6]. Les dérivés de la quinazoline sont également des broncho-dilatateurs [7], des antiallergiques [8], des antihypertenseurs et des antidiabétiques [9,10]. Ils font partie de la troisième génération des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), leur efficacité est comparable à celle de l'indométacine. En outre, les dérivés quinazoliniques présentent également un grand potentiel thérapeutique contre les tumeurs solides avancées, les métastases osseuses et les leucémies [11-14]. Ainsi une modification de cette molécule par substitution du noyau quinazolinique permet d'avoir des fonctionnalités biologiquement spécifiques [15-16].

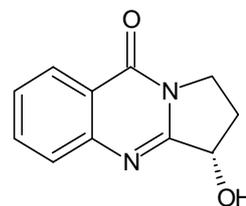
De nombreuses substances naturelles, en particulier les alcaloïdes, possèdent le squelette de la quinazoline. On peut citer la **rutecarpine** (1) [17] et l'**ardeemin** (2) [18]. Ces molécules sont des agents anticancéreux, des diurétiques et des antihypertenseurs [19,20]. Certaines plantes appartenant aux familles *Acanthaceae*, *Crucifères*, *Malvacées* et *Rutaceae* contiennent des alcaloïdes quinazoliniques. Parmi ces derniers, ceux qui ont été extraits des feuilles de *Adhatoda vasica* Nees (*Acanthaceae*) et qui sont représentés par plusieurs molécules dont on peut citer la **vasicinone** (3), qui est un stimulant respiratoire (bronchodilatateur) et un hypotenseur [21,22].



1

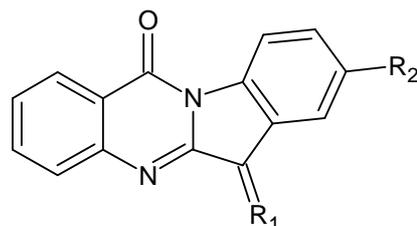


2



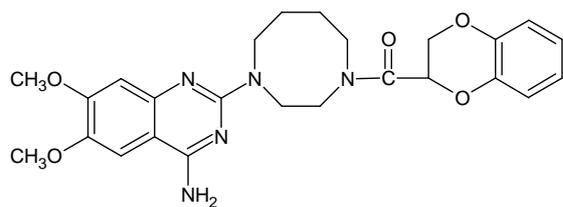
3

Parmi les autres produits naturels existants et qui possèdent une activité biologique élevée, l'**indoloquinazoline** (4). Cette classe d'alcaloïdes pouvant être obtenue à partir de diverses plantes, a généré beaucoup d'intérêt pour les chercheurs en raison de son activité antibactérienne et anticancéreuse ainsi que de sa faible toxicité cellulaire. Récemment, des analogues indoloquinazoliques ont pu être synthétisés et présentent une forte activité contre le cancer du colon ^[23,24].

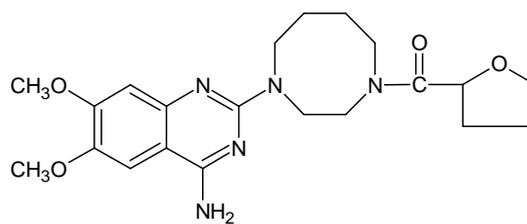


4

En raison de l'intérêt thérapeutique présenté par la quinazoline, au cours des dernières années, plus d'un millier de quinazolines, quinazolones et leurs analogues sulfurés ont été synthétisés afin d'améliorer la sélectivité de leur activité biologique. Parmi ces produits, le **terazocin**(5) et le **doxazocin** (6) ^[25,26] qui sont désignés après des essais cliniques comme étant des antagonistes spécifiques pour les récepteurs α -adrénergiques et entraînant une activité antihypertensive importante ^[27,28].

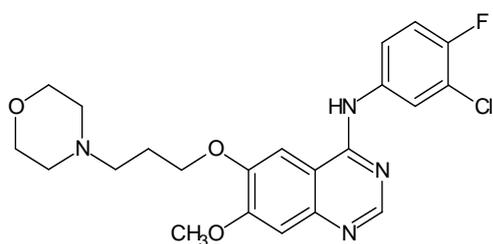


5

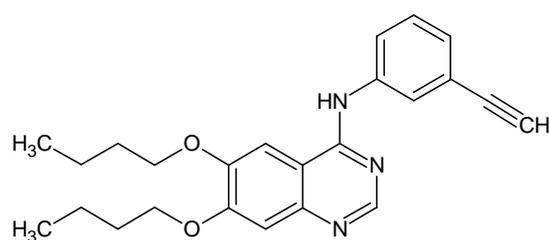


6

A côté de cette large gamme d'activités pharmacologiques que présentent certains dérivés de la quinazoline, on trouve la famille des 4-anilinoquinazolines telle que **géfítinib** (Iressa) (7) et **erlotinib** (8) (Tarceva) ^[29,30] qui sont des inhibiteurs compétitifs hautement sélectifs du site de liaison de l'ATP au sein de la tyrosine kinase des récepteurs du facteur de croissance épidermique (RFCE). Ces médicaments bloquent les voies de transduction du signal activé dans la prolifération des cellules cancéreuses. Les inhibiteurs de l'activité de la tyrosine-kinase des RFCE seraient efficaces dans le traitement des cancers comme celui des poumons ^[31,32].

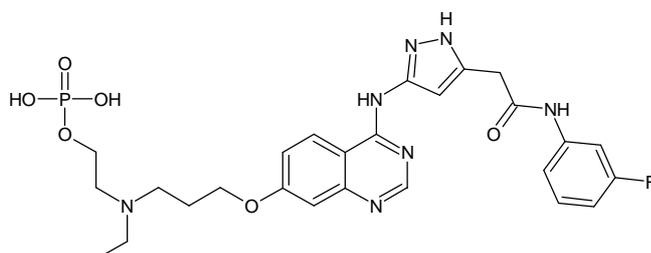


7



8

La même thérapie est présentée par **AZD1152** (9) mais avec un mécanisme d'action différent de celui évoqué pour la famille de 4-Anilinoquinazolines. En effet, il a été démontré que cette molécule a été décrite comme un inhibiteur sélectif d'Aurora A-kinase avec une puissante activité anti-tumorale ^[33,34].



9

Pour lutter contre les protozoaires *Trypanosoma et Leishmania*, espèces responsables de graves infections, la molécule la plus efficace qui agit lors de la phase d'infection est **CB3717** (10) c'est un inhibiteur compétitif hautement sélectif pour la Pteridine réductase comme le montre la figure I.1 [35]; dans laquelle on peut voir que tous les groupements fonctionnels participent à la formation des interactions qui sont des liaisons hydrogène avec Arg17, Ser111, Tyr194 et Tyr283 et des autres interactions de type van der Waal avec Phe113, Leu188, Leu226, Leu228, His241, Asp181 et Arg287.

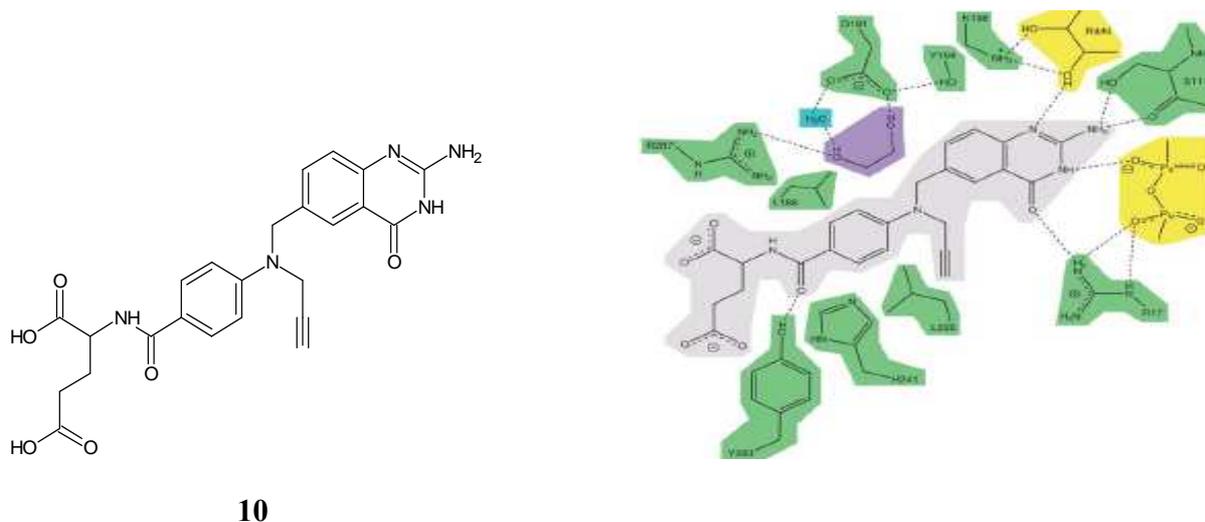
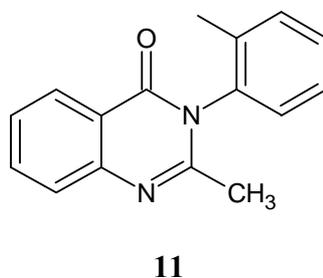
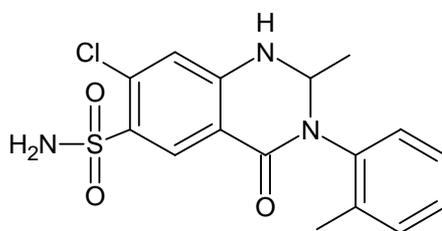


Fig.I.1 : Inhibition de la Pteridine réductase par CB3717.

La méthaqualone (11) est un hypnotique puissant agissant sur le système nerveux central. Cette molécule présente des caractéristiques biologiques comparables aux composés barbituriques [36,37].



La métolazone (Zaroxolyn) (12) est un diurétique dérivé de la quinazoline dont les propriétés s'apparentent généralement à celles des diurétiques thiazidiques. Zaroxolyn exerce ses effets en modifiant le mécanisme de réabsorption des électrolytes au niveau du tubule rénal. De façon plus précise, il agit principalement en inhibant la réabsorption du sodium au niveau du site de dilution cortical du tube distal et à un degré moindre, au niveau du tube contourné proximal. Les ions sodium et chlorure sont excrétés dans des proportions à peu près égales. L'apport accru en sodium au site d'échange tubulaire distal se traduit par une augmentation de l'excrétion du potassium. A coté de cette activité ce composé est un antihypertenseur indiqué dans le traitement de l'oedème ^[38,39].



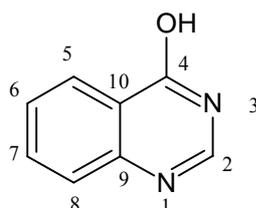
12

I.2- La quinazolin-4-ol :

I.2.1- Données bibliographiques sur le produit de départ:

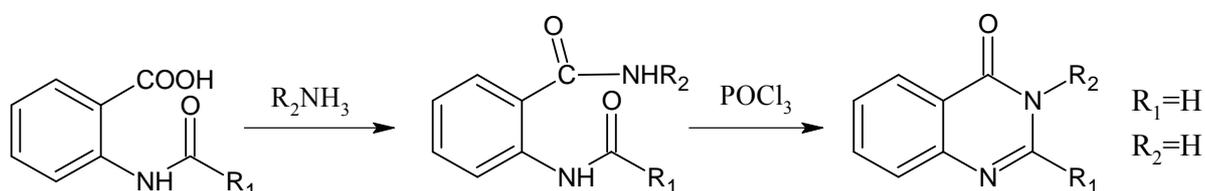
❖ les réactions de préparation :

La quinazolin-4-ol est un hétérocycle appartenant à la famille des quinazolines et dont la structure est représentée ci dessous:



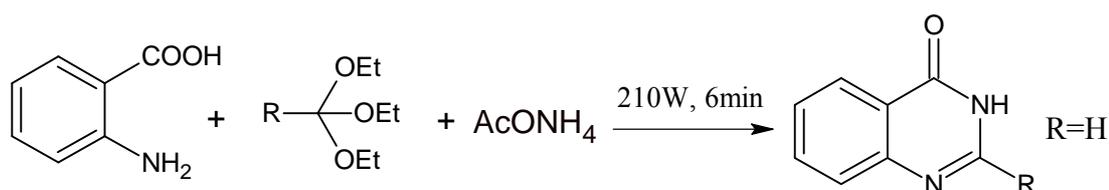
Dans la littérature, il existe un grand nombre d'articles et de brevets portant sur la synthèse et l'application de ce composé^[40-42].

La synthèse la plus classique pour préparer la quinazolin-4-ol est celle de Niementowski qui utilise des acides N-acylanthraniliques et des amines primaires. Dans cette synthèse, il se forme d'abord une diamide qui, mise en présence d'oxychlorure de phosphore, est cyclisée en quinazolin-4-one ou 4-hydroxyquinazoline^[43].



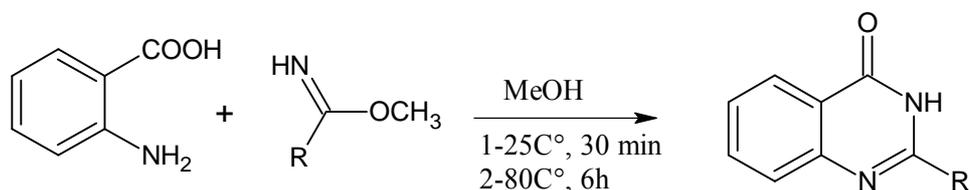
Equation de la réaction I.1

Rad-Moghadam et Mohseni^[44] ont préparé le dérivé 2-substitué quinazolin-4-one par la condensation de l'acide anthranilique avec l'acétate d'ammonium et un orthoester dans un four à micro-ondes avec un bon rendement.



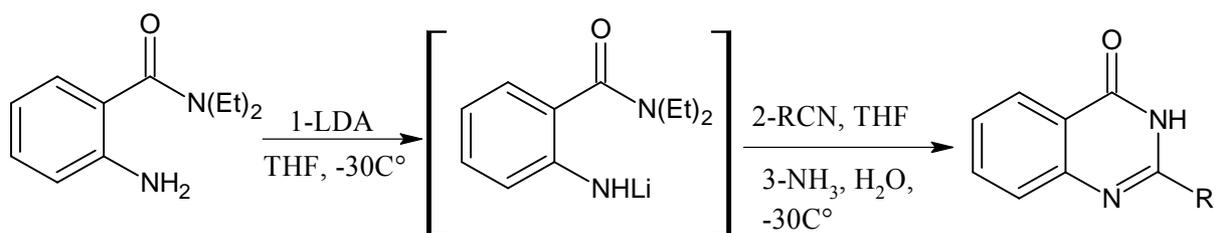
Equation de la réaction I.2

Cette approche a été utilisée pour la réaction de condensation de l'acide anthranilique avec les imidates en donnant aussi un bon rendement ^[22].



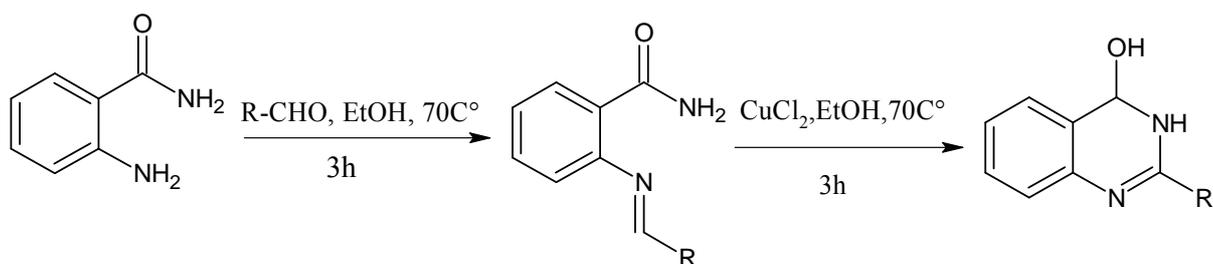
Equation de la réaction I.3

A partir de la réaction du 2-amino-N,N-diéthylbenzamide en présence du diisopropyl amidure de lithium, Couture et ses collaborateurs ^[22] ont synthétisé selon ce procédé l'intermédiaire [2 -(diéthylaminocarbonyl)] anilide qui se condense avec un nitrile aliphatique, via l'amine aromatique, en dérivé de la quinazolin-4-one.



Equation de la réaction I.4

Par ailleurs Abdel-Jalil et ses collaborateurs ^[45] ont préparé la quinazolin-4-ol par condensation de la 2-aminobenzamide avec un aldéhyde aliphatique, le produit obtenu est cyclisé en présence de chlorure de cuivre en 2-alkylquinazolin-4-ol



Equation de la réaction I.5

❖ Caractérisation de la molécule de départ:

Dans notre cas le produit de départ pour nos réactions de synthèse est la quinazolin-4-ol commercialisée. Avant d'être sujette aux réactions de modifications sur son squelette aromatique hétérocyclique, elle a été caractérisée par UV-Vis, FTIR et par RMN ^1H et ^{13}C .

Le spectre UV-Vis comporte quatre bandes : les bandes apparues à 302 nm et 314 nm correspondent à la transition $n \rightarrow \pi^*$, la bande à 266 nm correspond à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et la bande à 242 nm correspond à la transition $n \rightarrow \delta^*$.

Le spectre FTIR de ce composé présente une bande à 1710 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation du groupement carbonyle, celle correspondant à la vibration d'élongation de la double liaison $\text{C}=\text{N}$ est à 1604 cm^{-1} . A 1500 cm^{-1} on trouve la vibration d'élongation de la liaison $\text{C}=\text{C}$. La bande attribuée aux $\text{C}-\text{H}$ aromatiques apparaît vers 3065 cm^{-1} , le spectre présente aussi une bande assez large à 3225 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation du NH .

Dans le spectre RMN ^1H de la quinazolin-4-ol, on note la présence de deux triplets à 7.4 ppm et 7.8 ppm correspondant aux protons des C7 et C6, deux doublets d'intégrations (1:1) à 7.6 ppm et 8.2 ppm correspondant aux protons benzéniques des C5 et C8 ainsi que deux singulets à 8.1ppm et 12.2 ppm correspondant aux protons pyrimidique du C2 et du groupement hydroxyle respectivement.

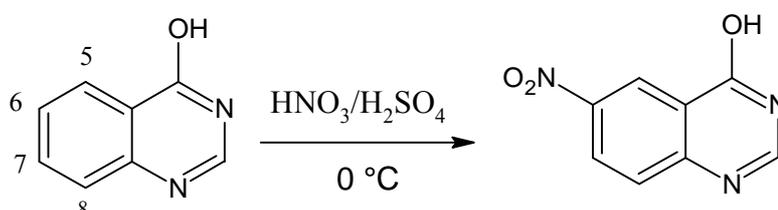
Dans le spectre RMN ^{13}C les atomes de carbone du noyau aromatique résonnent généralement dans la région comprise entre $\delta=100-170\text{ppm}$. La diminution de la densité électronique autour du carbone 4 a pour conséquence d'accroître son déblindage et déplace vers un champ plus faible, le déplacement chimique à une valeur de $\delta=160\text{ppm}$. Ceci est causé par la plus grande électronégativité de l'oxygène relativement à celle du carbone et de l'azote. Les déplacements des signaux à $\delta=148.8\text{ppm}$ et $\delta=145.5\text{ppm}$ pour C2 et C9 sont dus à la plus grande électronégativité de l'azote par rapport à celle du carbone. Les autres signaux correspondent aux carbones du cycle benzénique.

I. 2.2- Synthèse de la 6-nitroquinazolin-4-ol :

Il s'agit d'une réaction de la quinazolin-4-ol avec l'acide nitrique fumant dans un milieu d'acide sulfurique concentré, dans cette réaction on introduit le groupement nitro, -NO₂, par l'intermédiaire de l'ion nitronium, NO₂⁺. Cet électrophile est formé lors de la protonation de l'acide nitrique concentré par l'acide sulfurique concentré^[43].

La substitution électrophile par le groupement NO₂⁺ s'effectue sur le noyau benzénique, puisque la pyrimidine est beaucoup moins réactive que le benzène, dans ce genre de réaction on peut attribuer cette faible réactivité de la pyrimidine au fait que l'azote est plus électronégatif que le carbone. En effet, l'azote est moins capable de s'adapter à la déficience en électrons qui caractérise l'état de transition menant à l'ion positivement chargé pendant la substitution électrophile (énergie de l'état de transition est plus élevée en raison de la plus forte électro-négativité de l'azote)^[43].

Il a été rapporté qu'à basse température (0 °C) la quinazolin-4-ol est nitrée en position 6, avec un bon rendement soit environ (62%)^[43].

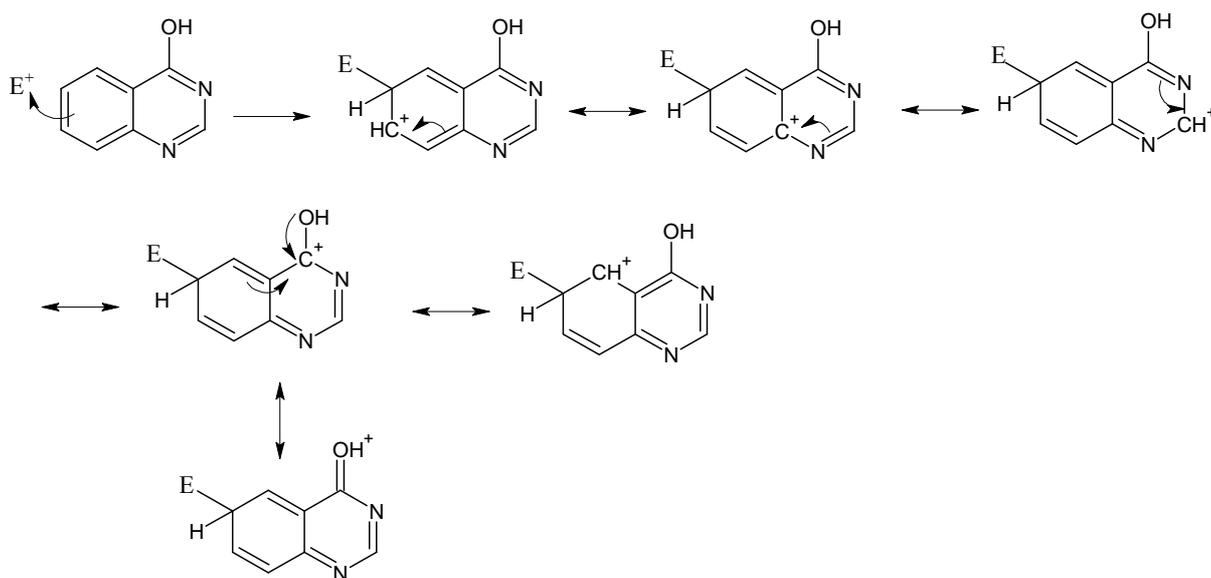


Equation de la réaction I.6

Pour comprendre pourquoi la substitution en cette position est elle favorable, on a examiné les formes limites de résonance du carbocation intermédiaire qui se formerait si un électrophile attaquait les différentes positions du noyau benzénique et exactement 5, 6, 7 et 8, leurs stabilités relatives seront comparées.

En s'appuyant sur la substitution aromatique du noyau benzène par les groupements électrophile et les formes mésomériques limites représentées^[43], on peut proposer les structures de résonance suivantes.

❖ Si l'attaque est en position 6 de même que pour la position 8 :



❖ Si l'attaque est en position 5 de même que pour la position 7 :

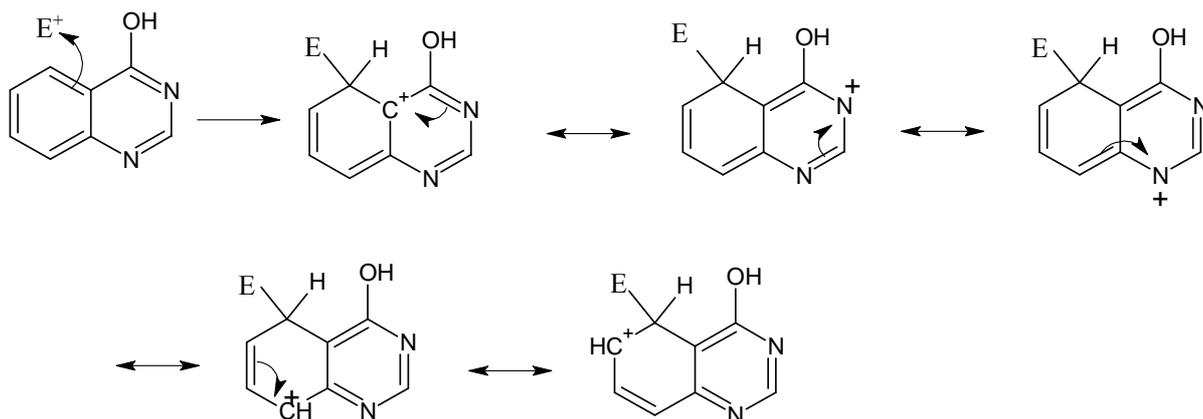


Fig. I.2 : Schéma montrant les différentes attaques électrophiles proposées sur le noyau aromatique de la quinazolin-4-ol.

Lors des attaques 6 et 8, les structures de résonance dans lesquelles le groupement hydroxyle est fixé directement à un carbone positivement chargé sont plus stables que les autres parce qu'elles sont soumises à l'effet stabilisateur efficace mésomère exercé par le groupement hydroxyle, les attaques en position 5 et 7 sont aussi défavorables car il y a plus de formes mésomériques limites quand l'attaque est en position 6 et 8. En revanche l'attaque en position 8 est défavorable par rapport à celle en 6 en raison de la diminution du caractère nucléophile de la double liaison, causé par l'effet électroattracteur de l'azote N (1). Ceci est encore confirmé en RMN du 1H par la valeur de déplacement du proton aromatique en

position 6 qui subit plus de déblindage par rapport au proton en position 8. Donc la position 6 est la plus favorable.

Dans notre cas le produit obtenu a été caractérisé par UV-Vis, FTIR et RMN ^1H et ^{13}C :

Le spectre UV-Vis présente deux bandes principales d'absorption à 320 nm et à 238 nm, ce qui correspond à un déplacement bathochrome de la première bande et un déplacement hypsochrome de la deuxième bande par rapport à la molécule de départ dont les bandes caractéristiques étaient à 314nm et 266nm respectivement. La substitution aromatique est bien mise en évidence on observant la bande qui apparaît à 320nm et qui associé à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupement NO_2 .

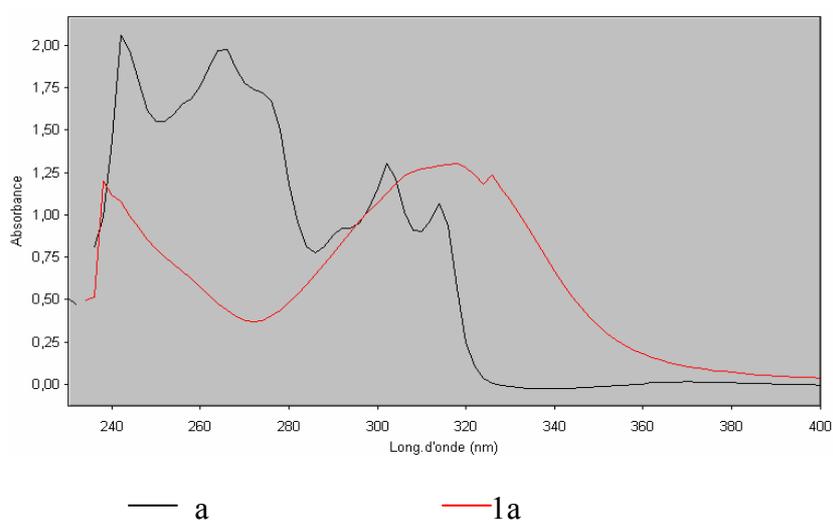


Fig. I.3: Spectres UV-Vis de la quinazolin-4-ol (a) et de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a).

L'analyse FTIR montre clairement l'apparition de la bande caractéristique du groupement $\text{N}=\text{O}$ de la vibration d'élongation asymétrique à 1500 cm^{-1} et symétrique à 1390 cm^{-1} .

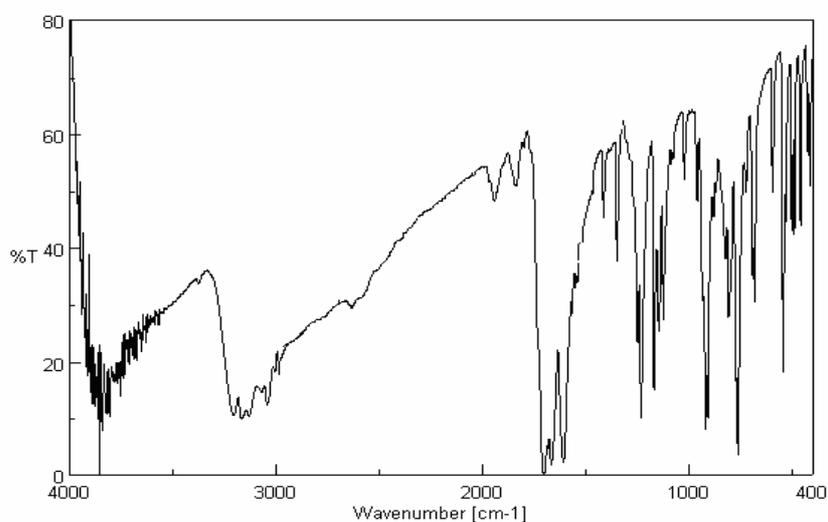


Fig. I.4: Spectre FTIR de la quinazolin-4-ol (a).

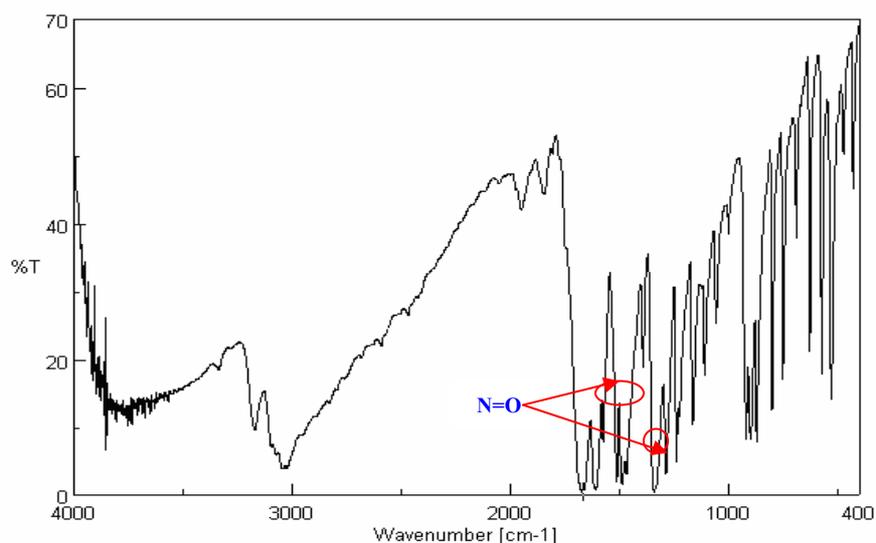


Fig.I.5: Spectre FTIR de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a).

Dans le spectre RMN du proton l'intégration du signal correspond à 4 protons aromatiques au lieu des 5 protons observés pour le produit de départ. Aussi l'on observe un déblindage des protons aromatiques, passant de 7.4 ppm pour la quinazolin-4-ol à 7.7 ppm pour la 6-nitro-quinazolin-4-ol sous l'effet du groupement nitro, ainsi que la disparition de deux triplets relatifs aux protons du C6 et C7 avec l'apparition de deux doublets vers 7.7 ppm et vers 8.4 ppm correspondant aux deux protons du C7 et C8, un singulet vers 8.2 ppm correspondant au proton du C5.

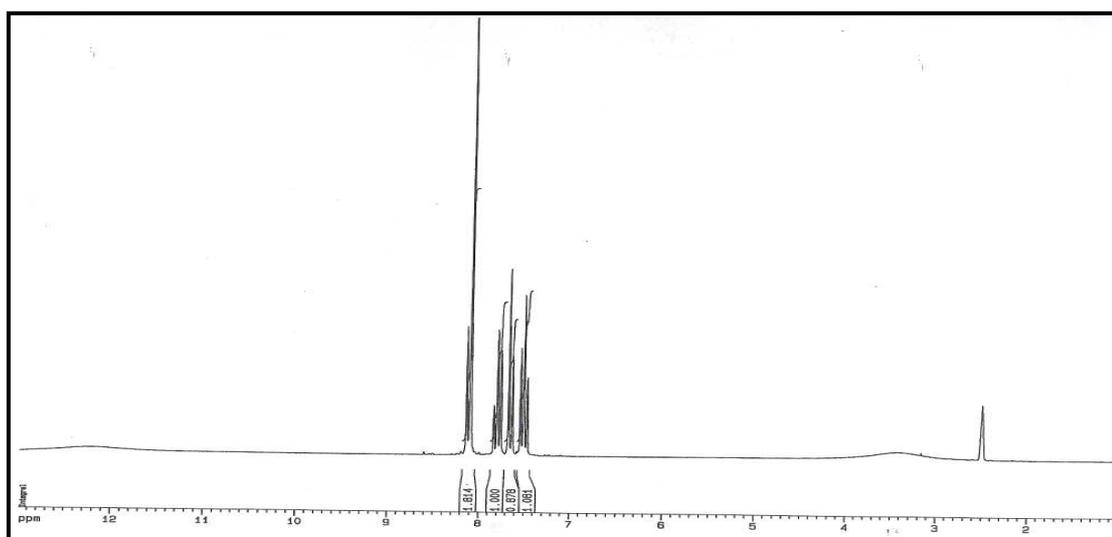


Fig. I.6: Spectre RMN ^1H de la quinazolin-4-ol (a).

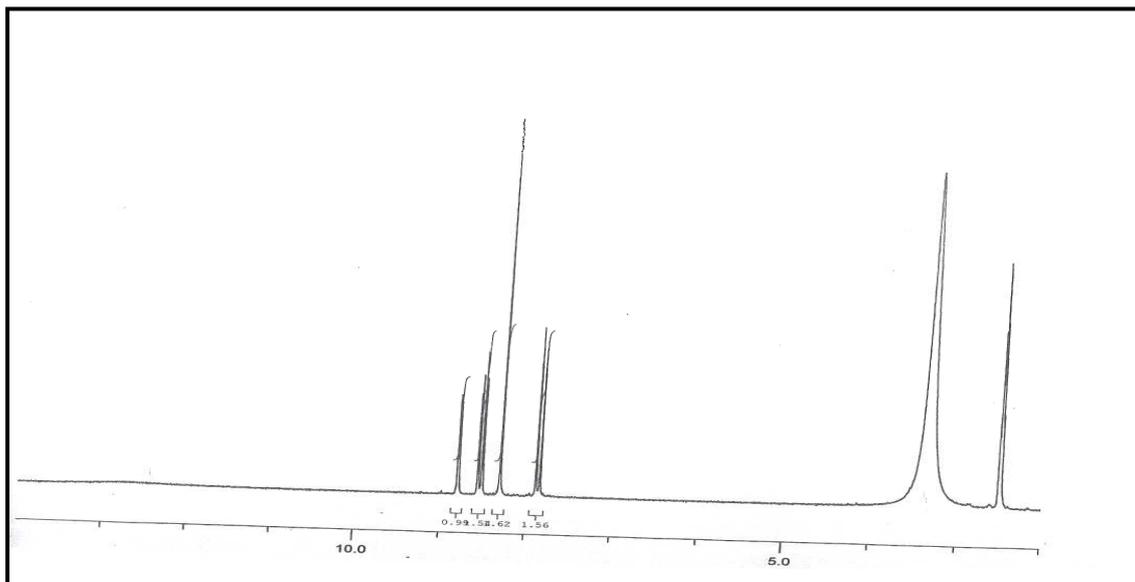


Fig. I.7: Spectre RMN ^1H de la 6-nitroquinazolin-4-ol (1a).

Après ces caractérisations, ce produit a servi comme produit de départ dans une nouvelle série d'alkylation.

I.2.3- Alkylation de la 6-nitroquinazolin-4-ol :

La réactivité du produit de départ, quinazolin-4-ol est reliée étroitement à sa tautomérie, celle-ci était reconnue depuis 1887 par Weddige^[43]. Toutefois il faut noter qu'elle existe en solution aqueuse sous trois formes en équilibre.

La forme lactame $-C(=O)-NH$ (a_1); la forme lactime $-C(OH)=N$ (a_2) et la forme céto-imine- $(C=O)-N=C-$ (a_3). D'après la littérature la proportion de la forme (a_3) est très faible à l'équilibre.

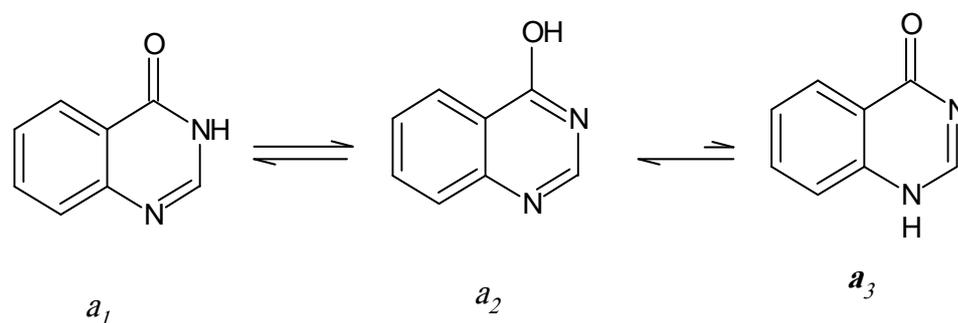


Fig. I.8: Equation chimique montrant l'équilibre tautomère de la quinazolin-4-ol.

L'établissement de l'équilibre à partir de ces formes, très lent en milieu neutre est catalysé par les bases et les acides. La position de l'équilibre dépend essentiellement du composé étudié et du solvant choisi, la forme énol est stabilisée préférentiellement par les solvants capables d'accepter des ponts hydrogène, alors que la forme cétone est stabilisée de préférence par les solvants aprotiques^[46].

Les réactions de substitution nucléophile comme l'alkylation sur la quinazolin-4-ol se produisent de préférence au niveau du noyau pyrimidinique, qui est pauvre en densité électronique; donc la plus grande électronégativité de l'azote le rend plus apte à s'ajuster à l'excès de charge négative qu'il doit accepter dans une substitution nucléophile^[47].

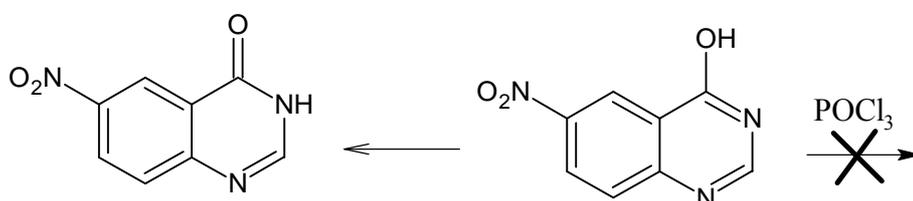
En raison du caractère acide, les protons $N1-H$, $N3-H$ et $C4-OH$ du composé peuvent facilement être arrachés.

La réactivité des atomes (azote et oxygène) de cette molécule n'est pas équivalente donc il y a trois sites d'alkylation : l'azote en position 1 ou en 3 et l'hydroxyle greffé en 4, ceci permet d'envisager une compétition entre la N-alkylation et la O-alkylation.

L'alkylation s'effectue dans un ordre préférentiel et débute par l'azote en position 3 de l'hétérocycle, cette alkylation en N (3) qui se produit dans la majorité des cas n'est pas une

indication de la prépondérance du tautomère (a1) dans le mélange, car les réactions d'alkylation sont lentes relativement aux échanges tautomères et sont sérieusement affectées par les interférences stériques. Donc même si le tautomère (a3) prédominait (ce qui n'est pas le cas), l'alkylation se produirait sur les formes (a1) et (a2).

L'équilibre tautomère de la quinazolin-4-ol est fortement déplacé vers la forme (a1) après la nitration, ceci peut s'expliquer par la présence du groupement nitro électroattracteur sur le noyau benzénique de la quinazolin-4-ol en position 6. Une tentative de la réaction de chloration de la 6-nitroquinazolin-4-one par l'oxychlorure de phosphore n'aboutit pas au produit chloré, cela nous a amené à conclure que la forme énolique était inexistante.



Equation de la réaction I.7

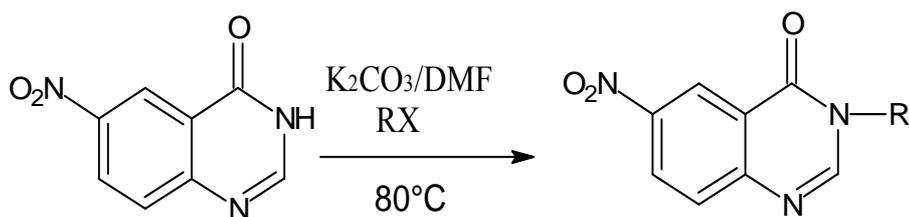
La 6-nitroquinazolin-4-one (dont l'aspect est une poudre) examinée en FTIR montre une bande forte du carbonyle vers 1671 cm^{-1} , valeur abaissée par la conjugaison avec la liaison double. On observe aussi une bande large vers 3205 cm^{-1} indiquant la liaison NH.

De cette manière, l'orientation de la substitution aromatique électrophile sur la 6-nitroquinazolin-4-ol correspond à l'attaque de l'azote (N3) et cette réaction conduit aux produits N-alkylés quelque soit les agents alkylants utilisés.

Deux méthodes ayant chacune un mode opératoire différent ont été adaptées pour la synthèse de l'alkyle 6-nitroquinazolin-4-one : la méthode classique utilisant le K_2CO_3 comme base et le DMF comme solvant ainsi que la méthode par catalyse de transfert de phase (CTP) utilisant le toluène, la potasse aqueuse (à 50%) et un agent dispersant (bromure de tetrabutylammonium).

En effet le mode opératoire choisi était celui utilisant le K_2CO_3 comme base et le DMF comme solvant en présence de différents halogénures d'alkyles en raison des bons rendements obtenus avec cette méthode, son temps réduit et son mode opératoire qui est plus adapté.

La réaction peut être représentée par l'équation suivante:



. Equation de la réaction I.8

D'un côté, le choix du DMF comme solvant aprotique polaire favorise en premier lieu la déprotonation de l'azote et exalte ainsi sa nucléophilie. Ainsi, c'est un bon solvant pour dissocier les sels, il présente une solvation sélective pour le système $(2K^+ / CO_3^{2-})$, ce qui rend l'anion carbonate plus libre et prêt à l'attaque du proton de l'azote. Il se produit alors une substitution nucléophile sur le substrat alkyle.

D'un autre côté, le cation K^+ est un ion relativement volumineux ce qui diminue l'attraction électrostatique avec le nucléophile « oxonium »^[43].

La Substitution nucléophile est mise en évidence par UV-Vis, FTIR et par RMN:

Le spectre UV-Vis présente la même allure que le spectre du produit nitré, à l'exception d'un faible déplacement bathochrome observé par rapport au produit nitré ce qui prouve qu'une alkylation s'est produite.

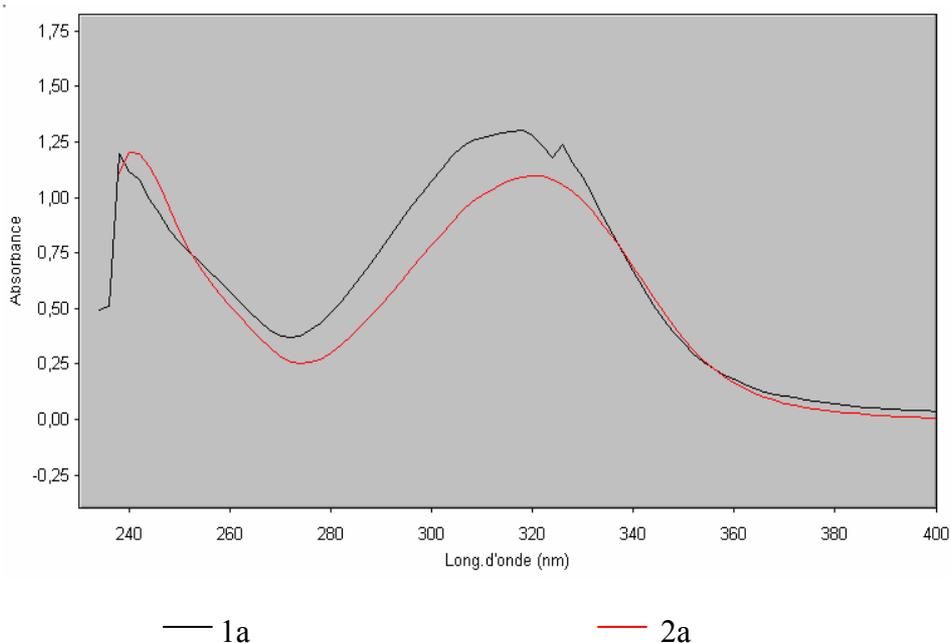


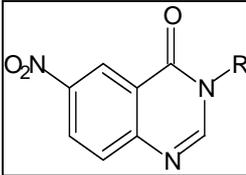
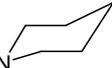
Fig. I.9: Spectres UV-Vis de la 6-nitroquinazolin-4-one (1a) et de la 3-Méthyl-6-nitroquinazolin-4-one (2a).

Les spectres FTIR montrent bien la disparition des groupements NH. Ils présentent une bande à 1671 cm⁻¹ du groupement carbonyle. Les bandes des vibrations d'élongations des CH de la chaîne alkyle se trouvent à 2960 cm⁻¹.

Le spectre RMN ¹H montre clairement la disparition du proton N(3) et l'apparition des protons aliphatiques, l'obtention des dérivés N-R est confirmée par un déplacement chimique du -CH₂ à environ 40 ppm en RMN ¹³C.

Pour les composés préparés, les différentes chaînes alkyles greffées ainsi que les rendements réactionnels sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau .I.1 : Dérivés de la 6-nitroquinazolin-4-one préparés avec les rendements obtenus.

	<i>Composé</i>	<i>R</i>	<i>Rendement %</i>
	2a	-CH ₃ [X=I]	68
	3a	-CH ₂ CH ₃ [X=Br]	65.9
	4a	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂ [X=Cl]	47.38
	5a	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH ₃) ₂ [X=Cl]	56.78
	6a	-CH ₂ -CH ₂ -N  [X=Cl]	55.83
	7a	-CH ₂ -CH ₂ -N  [X=Cl]	54.9

On remarque que les valeurs des rendements obtenus dépendent de la réactivité de l'halogénure d'alkyle. Les bromures et les iodures réagissent généralement de façon équivalente mais les chlorures se montrent moins performants. Il semblerait que cette différence de réactivité soit due à des facteurs stériques. D'ailleurs si la force de la liaison C—X diminue (énergie de liaison C-I < énergie de liaison C-Br < énergie de liaison C-Cl) la longueur de la liaison augmente ($R_{\text{Cl}}=1.78 \text{ \AA}$, $R_{\text{Br}}=1.93 \text{ \AA}$, $R_{\text{I}}=2.14 \text{ \AA}$). Cette diminution de l'énergie de liaison est principalement due au manque d'efficacité du recouvrement des orbitales qui est maximal entre des orbitales de même nombre quantique principal (n)^[47].

Sans oublier que dans le cas des chlorures d'aminoalkyles, l'effet du groupement amino diminue l'énergie de liaison C-Cl à cause de l'électronégativité de l'azote.

I.2.4-PARTIE EXPÉRIMENTALE :

I.2.4.A- Méthodes d'identification :

❖ Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode d'identification nous a permis de tester la pureté des produits préparés et de suivre le déroulement de la réaction du point de vue cinétique. Elle a été réalisée sur des plaques de CCM dont la phase stationnaire est constituée par du gel de silice sur plaque d'aluminium. La révélation des taches a été faite par observation sous lampe ultraviolette. Après différentes essais, les éluants suivants ont été sélectionnés:

Eluant A : AcEt/MeOH; 7/3 ; v/v

Eluant B : CHCl₃/MeOH/AcEt ; 5/2/3 ; v/v/v

Eluant C : CHCl₃/ EP/MeOH ; 8/1.5/0.5 ; v/v/v

Eluant D : CHCl₃/EP ; 8/2 ; v/v

Eluant E : CHCl₃/ EP/MeOH ; 8.5/1/0.5 ; v/v/v

❖ Température de fusion

Les températures de fusion (Tf) sont mesurées sur banc de Köfler et pour les points de fusion supérieurs à 260°C à l'aide d'un fusiomètre de type **BÜCHI** Melting Point B-540 (0°C – 450 °C).

❖ Spectrométrie RMN

Les spectres RMN ont été réalisés sur un appareil **BRUKER AVANCE DPX 250MHZ** avec une fréquence de 250 MHz pour le proton et le carbone 13. Les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplages J sont données en Hertz (Hz). Les abréviations utilisées sont : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), (m, multiplet).

❖ Spectrométrie FTIR :

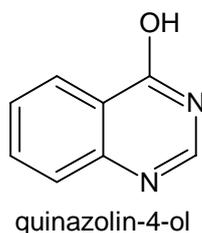
Les analyses FTIR sont réalisés sur un appareil **FTIR 8400S SHIMDZU**, les poudres sont comprimées en pastille en présence de KBr. Les nombres d'onde sont exprimés en cm⁻¹.

❖ Spectrométrie UV-Vis :

Les analyses UV-Vis sont réalisés sur l'appareil de type **PYE UNICAM UV 300** à doubles faisceaux.

I.2.4.B- Mode opératoire :

Produit de départ :



Aspect : cotonneux

Couleur : Blanchâtre

Masse moléculaire : 146g/mol

Point de fusion : 216-219C°

Rf = 0,44 (éluant C)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{\max 1}$ = 302 nm; $\lambda_{\max 2}$ = 314 nm; $\lambda_{\max 3}$ = 266 nm; $\lambda_{\max 4}$ = 242 nm.

FTIR (KBr)

$\nu_{\text{C-NH}}$ = 3225 cm^{-1} ; ν_{CHar} = 3065 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ = 1710 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=N}}$ = 1604 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ = 1500 cm^{-1} .

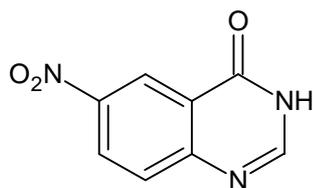
RMN ^1H (DMSO)/TMS

7.4ppm (td, 1H, J=1.4-8.4Hz); 7.6ppm (d, 1H, J=8Hz); 7.8ppm (td, 1H, J=1.4-8Hz); 8.1ppm (s, 1H); 8.2ppm (d, 1H, J=1.4-8.2Hz); 12.2ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

160ppm (C4); 148.8ppm (C2); 145.5ppm (C9); [134.4ppm, 127.2ppm, 126.8ppm, 125.9ppm, 122.7ppm] (C Benzène).

6-nitroquinazolin-4-one (1a)



Dans un ballon de 100 ml, on introduit 0.73 g (5mmol) de quinazolin-4-ol et 6 ml d'acide sulfurique, le tout est plongé dans un bain de glace sous agitation jusqu'à la dissolution. On ajoute goutte à goutte 0.6 ml d'acide nitrique, après 2h on retire le bain de glace, et laisse le mélange à température ambiante pendant 4h. Ensuite le mélange réactionnel est versé dans 200 ml d'eau et soumis à une agitation jusqu'à précipitation complète du produit, le produit est filtré et lavé abondamment à l'eau, 0.57 g de produit est recueilli sous forme d'une poudre de couleur jaune avec un rendement de 62 %.

Tf = 268-270 °C

Rf = 0,5(éluant C)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 320 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 238 \text{ nm}$.

FTIR (KBr)

$\nu_{\text{C-NH}} = 3205 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CHar}} = 3071 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O}} = 1671 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1604 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1565 \text{ cm}^{-1}$;
 $\nu_{\text{as N=O}} = 1500 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1340 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (DMSO)/TMS :

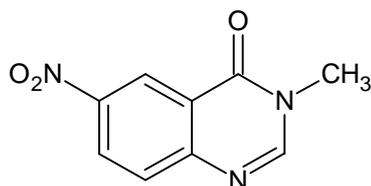
7.7 ppm (d, 1H, J=8.7Hz); 8.2 ppm (s, 1H); 8.4 ppm (dd, 1H, J=2.7-8.7Hz); 8.7 ppm (s, 1H)

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

160ppm (C=O); 152.9ppm (C2); 148.8 ppm (C9); [144.9 ppm, 129ppm, 128.2ppm, 122.7ppm, 128.2ppm](C Benzène).

Le produit nitré est préparé en quantité suffisante pour réaliser les différentes réactions d'alkylation.

3-Méthyl-6-nitroquinazolin-4-one (2a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml de DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.13g (8mmol) de K_2CO_3 et 4 mmol (0,165ml) d'iodure de méthyle. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h puis versé dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.55 g de produit est recueilli, soit un rendement de 68% sous forme d'une poudre jaune très claire.

Tf = 200-202 °C

Rf = 0,83 (éluant C)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 320 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 240 \text{ nm}$.

FTIR (KBr)

$\nu_{\text{CHar}} = 3064 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CH alkyl}} = 2964 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O}} = 1694 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1608 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1570 \text{ cm}^{-1}$;
 $\nu_{\text{as N=O}} = 1502 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1328 \text{ cm}^{-1}$.

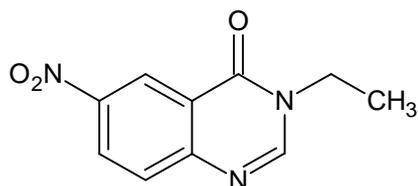
RMN ^1H (DMSO)/TMS :

3.5ppm (s, 1H); 7.8ppm (d, 1H, J= 8.99 Hz); 8.5ppm (dd, 1H, J=2.5-9.1 Hz); 8.6ppm (s, 1H); 8.8ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

160ppm (C=O); 152.36ppm (C2); 152.1ppm (C9); [145.9ppm, 129.44ppm, 128.14ppm, 122.81ppm, 121.8ppm] (C Benzène); 34.27ppm (CH₃).

3-Ethyl-6-nitroquinazolin-4-one (3a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.13g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.29 ml (4 mmol) de bromure d'éthyle. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h puis versé dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.57 g de produit pur est recueilli, soit un rendement de 66% sous forme d'une poudre jaune très claire.

Tf = 166-168 °C

Rf = 0,13(éluant D)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 322 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 242 \text{ nm}$.

FTIR (KBr)

$\nu_{\text{CHar}} = 3091 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CH alkyl}} = 2972 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O}} = 1673 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1617 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1567 \text{ cm}^{-1}$;
 $\nu_{\text{as N=O}} = 1495 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1344 \text{ cm}^{-1}$.

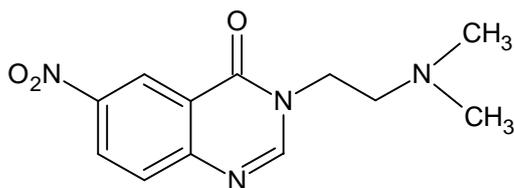
RMN ^1H (DMSO)/TMS :

1.8ppm (t, 3H, J=7.15 Hz); 4.1 ppm (q, 2H, J=7.15 Hz); 7.8ppm (d, 1H, J=8.98Hz); 8.4ppm (dd, 1H, J=2.9-8.99 Hz); 8.6ppm (s, 1H); 8.8ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

159.6ppm (C=O); 152.14ppm (C2); 152.5ppm (C9); [145.3ppm, 129.3ppm, 128.3ppm, 122.3ppm, 121.9ppm] (C Benzène), 42.1ppm (CH₂); 14.64ppm (CH₃).

3-(2-Diméthylamino-ethyl)-6-nitroquinazolin-4-one (4a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.11g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.57g (4 mmol) de chlorhydrate de 2-chloro-diméthylaminoéthane. Le mélange réactionnel est porté à $100^\circ C$ pendant 6h puis versé dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.49 g de produit pur est recueilli, soit un rendement de 47% sous forme d'une poudre jaune citron.

Tf = $113-115^\circ C$

Rf = 0,26 (éluant D)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{max1} = 318 \text{ nm}$; $\lambda_{max2} = 238 \text{ nm}$.

FTIR (KBr)

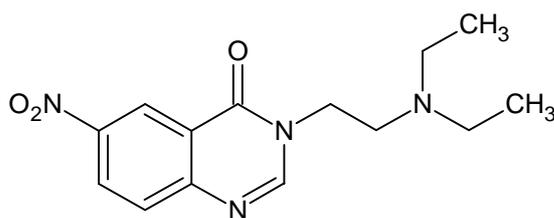
$\nu_{CHar} = 3091 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{CH \text{ alkyl}} = 2910 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1686 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=N} = 1608 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=C} = 1570 \text{ cm}^{-1}$;

$\nu_{as \text{ N=O}} = 1490 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{s \text{ N=O}} = 1346 \text{ cm}^{-1}$.

RMN 1H (D_2O)/TMS :

3ppm (s, 1H); 3.6ppm (t, 2H, $J=5.8\text{Hz}$); 4.5ppm (t, 2H, $J=5.8\text{Hz}$); 7.8ppm (d, 1H, $J=8.8\text{Hz}$); 8.4ppm (s, 1H); 8.5ppm (dd, 1H, $J=2.6-8.7\text{Hz}$); 8.9ppm (s, 1H)

3-(2-Diéthylamino-ethyl) 6-nitroquinazolin-4-one (5a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.13g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.69g (4 mmol) de chlorhydrate de 2-chloro-diéthylaminoéthane. Le mélange réactionnel est porté à $100^\circ C$ pendant 6h puis versé dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.64 g de produit pur est recueilli, soit un rendement de 57% sous forme d'une poudre beige.

Tf = $100-98^\circ C$

Rf = 0.29 (éluant E)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{max1} = 320 \text{ nm}$; $\lambda_{max2} = 240 \text{ nm}$.

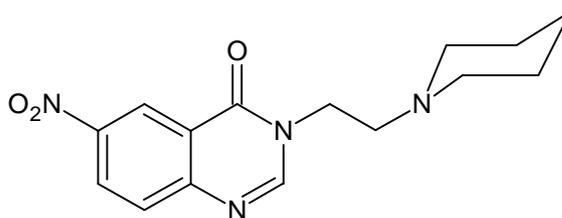
FTIR (KBr)

$\nu_{CHar} = 3078 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{CH \text{ alkyl}} = 2964 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1678 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=N} = 1607 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=C} = 1565 \text{ cm}^{-1}$;
 $\nu_{as \text{ N=O}} = 1500 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{s \text{ N=O}} = 1338 \text{ cm}^{-1}$.

RMN 1H (D_2O)/TMS :

1.3ppm (t, 6H, $J=6.9\text{Hz}$); 3.3ppm (q, 4H, $J=7.1\text{Hz}$); 3.5ppm (t, 2H, $J=5.4\text{Hz}$); 4.4ppm (t, 2H, $J=5.4\text{Hz}$); 7.6ppm (d, 1H, $J=8.9\text{Hz}$); 8.4ppm (dd, 1H, $J=2.5-9.1\text{Hz}$); 8.5ppm (s, 1H); 8.6ppm (s, 1H).

3-(2-pipéridin-1-yl-ethyl)-6-nitroquinazolin-4-one (6a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.11g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.73 g (4 mmol) de chlorhydrate N (2-chloroéthyl) pipéridine. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h puis versé dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.67g de produit pur est recueilli, soit un rendement de 56% sous forme d'une poudre jaunâtre.

Tf = 106-108°C

Rf = 0.26 (éluant A)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 320 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 240 \text{ nm}$.

FTIR (KBr)

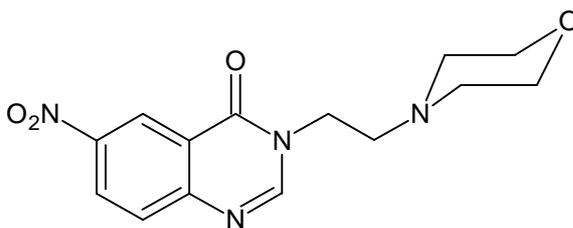
$\nu_{\text{CHar}} = 3078 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CH alkyl}} = 2941 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O}} = 1685 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1602 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1570 \text{ cm}^{-1}$;

$\nu_{\text{as N=O}} = 1504 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1336 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (D_2O)/TMS :

1.6ppm (m, 2H); 1.9ppm (m, 4H); 3.4ppm (m, 4H); 3.6ppm (t, 2H, J=5.8Hz); 4.5ppm (t, 2H, J=5.8Hz); 7.8ppm (d, 1H, J=9.2Hz); 8.5ppm (s, 1H); 8.6ppm (dd, 1H, J=2.7-8.9Hz); 8.9ppm (s, 1H).

3-(2-Morpholin-4-yl-ethyl)-6-nitroquinazolin-4-one (7a)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1a**) dans 15 ml DMF sous une forte agitation jusqu'à la dissolution. Ensuite, on ajoute 1.11g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.74g (4 mmol) de chlorhydrate de N (2-chloroéthyl) morpholine. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h puis jeté dans l'eau glacée. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau; 0.66g de produit pur est recueilli, soit un rendement de 55% sous forme d'une poudre beige.

Tf = 152-154 °C

Rf = 0.58 (éluant E)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1}$ = 322 nm; $\lambda_{\max 2}$ = 242 nm.

FTIR (KBr)

ν_{CHar} = 3101 cm^{-1} ; $\nu_{\text{CH alkyl}}$ = 2986 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ = 1678 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=N}}$ = 1600 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ = 1572 cm^{-1} ;
 $\nu_{\text{as N=O}}$ = 1500 cm^{-1} , $\nu_{\text{s N=O}}$ = 1340 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3)/TMS :

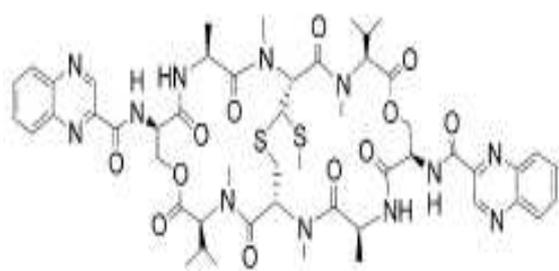
2.5ppm (m, 4H); 2.7 (t, 2H J=5.6Hz); 3.6ppm (t, 4H, J=4.6Hz); 4.1ppm (t, 2H, J=5.6Hz);
7.8ppm (d, 1H, J=9.1Hz); 8.2ppm (s, 1H); 8.5ppm (dd, 1H, J=2.4-9.2Hz); 9.1ppm (s, 1H).

CHAPITRE II
LES DERIVES DE LA QUINOXALIN-2-OL

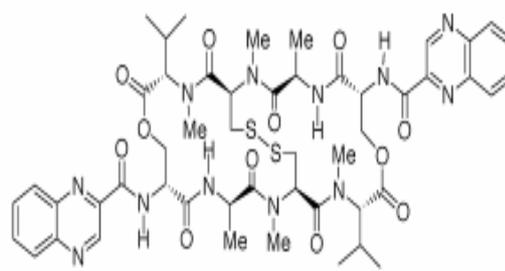
II.1-Généralités sur les médicaments quinoxaliniques :

Les quinoxalines sont formées par l'accolement d'un noyau de benzène avec la pyrazine. La préparation de ces molécules joue un rôle très important dans la synthèse organique [48]. Ce sont des composés à fort potentiel thérapeutique [49-52]. En effet, certains de ces composés ont été utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires (asthme, rhumatisme), celles liées à la dépression [53,54] et des maladies infectieuses (bactériennes, virales), ainsi que celles des cancers [55,56], ils sont aussi utilisés comme agents anti-HIV [57]. Le squelette quinoxalinique constitue donc un outil efficace pour le développement de nouvelles synthèses d'hétérocycles biologiquement actifs.

Peu de composés naturels ayant une structure dérivée de la quinoxaline ont été recensés. Parmi les produits naturels d'origine bactérienne, on peut citer la famille de l'octadepsipeptide-1 bicyclique qui a été isolée à partir de diverses streptomyces, elle possède une activité antibactérienne surtout vis-à-vis des gram-positifs et une activité anticancéreuse envers certaines tumeurs animales [58]. Cette famille de composés forme aussi une classe d'antibiotiques qui englobe deux séries de composés, semblables en composition, l'*echinomycin* (1) et le *trioistins* (2), leurs fixations à l'ADN comme agents intercalants conduit à une inhibition de la synthèse d'ARN [59-61].

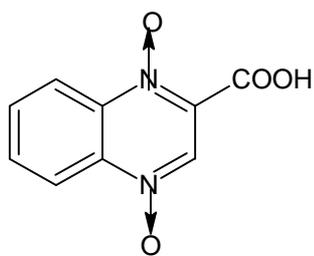


1



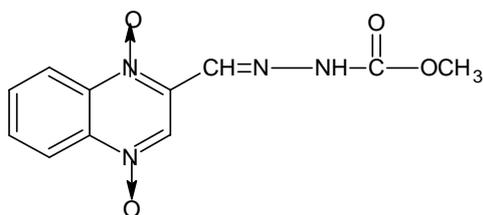
2

Les quinoxalines N-dioxydes sont des agents antibactériens puissants qui agissent sur plusieurs bactéries à gram-positif et gram- négatif [62-64], leur activité a été signalée pour la première fois en 1943 [65]. Le composé naturel, le *1,4-dioxyde de l'acide quinoxaline-2-carboxylique* (3) est un antibiotique produit naturellement par des cultures de Streptomyces ambofaciens [66].

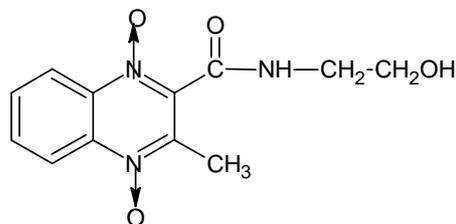


3

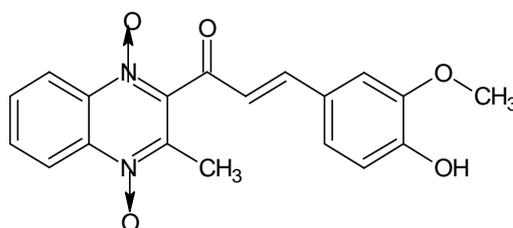
Le noyau N-dioxyde diversement substitué se retrouve chez d'autres substances antibactériennes synthétisées. Parmi ces composés, nous pouvons citer les deux dérivés *carbadox* (4) et *olaquinox* (5) [67,68]. Ce squelette, grâce à des modifications structurales possède un large spectre d'activité anti-inflammatoire citons l'exemple du dérivé *3-phenyl-1-(1,4-di-N-oxide quinoxalin-2-yl)-2-propen-1-one* (6) [69].



4

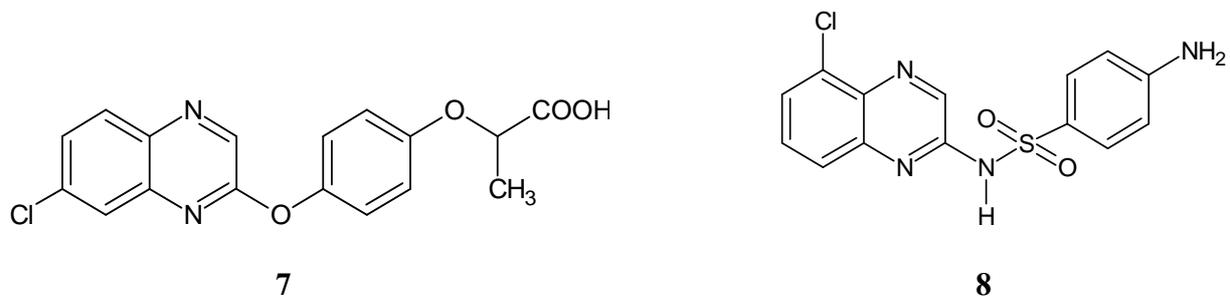


5



6

En dépit des progrès réalisés, le cancer reste un problème de santé majeur, aussi l'élaboration de nouveaux médicaments, plus sélectifs et moins toxiques, demeure donc une priorité. Parmi les dérivés quinoxaliniques synthétisés utilisés sont la *XK469* (2-{4-[(7-Chloro-2-quinoxalinyloxy]phenoxy}propionate) (7), et *EQC* (chloroquinoxaline sulfamides) (8). Ces molécules exercent une activité inhibitrice de la topoisomérase I, ce qui empêche la reconstitution du brin d'ADN [70-72].



Il existe d'autres substances anticancéreuses avec un mode d'action différent, on peut citer, *le dérivé de la 2-hydroxyquinoxaline* (9) qui est un inhibiteur de cyclin-dépendant kinase (CDK), comme le montre la figure II.1. Cette enzyme est impliquée dans la modulation du développement et de la différenciation cellulaire. Il est donc une cible pour la préparation des médicaments anticancéreux ^[73]. Les interactions mises en jeu entre ces molécules et l'CDK sont des liaisons hydrogène avec Val83 et Lys33 et autre interaction hydrophobe avec Ala144, Leu134, et Asn132.

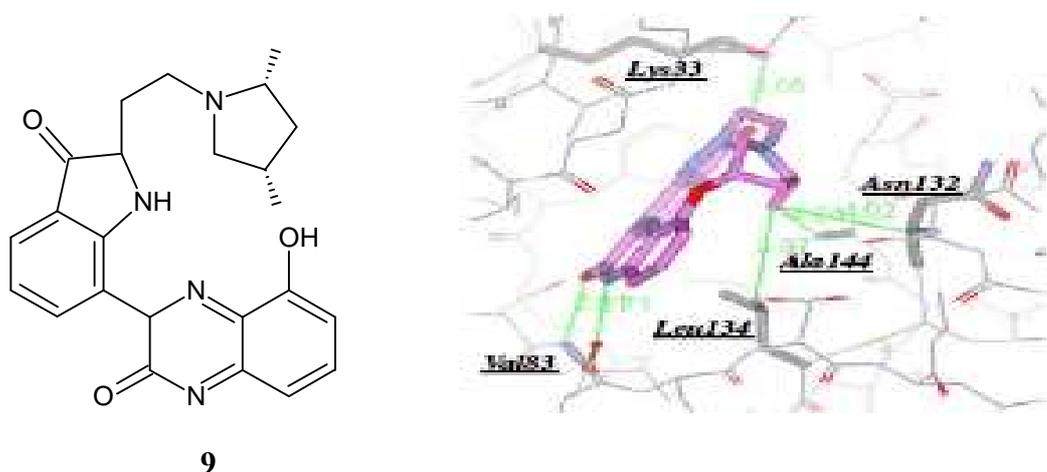
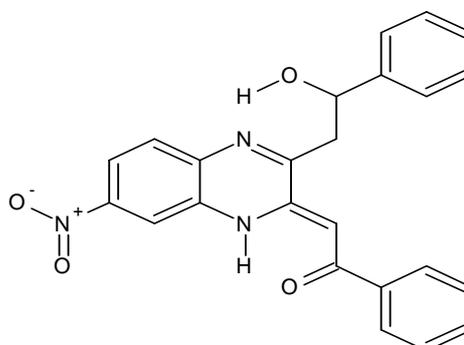


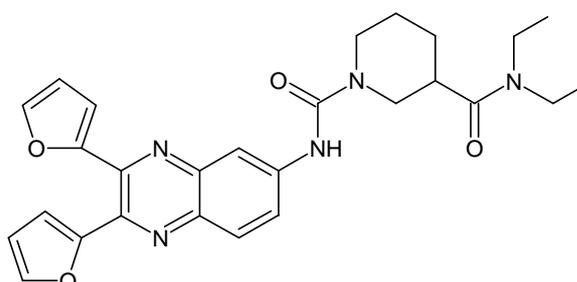
Fig.II.1 : Inhibition de la cyclin-dépendant kinase par un dérivé de la 2-hydroxyquinoxaline.

Concernant l'activité antifongique, la **2,3-bis-[(2-hydroxy-2-phényl)éthényl]-6-nitro-quinoxaline** (10) est représentée par une nouvelle famille entraînant l'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum* [74].



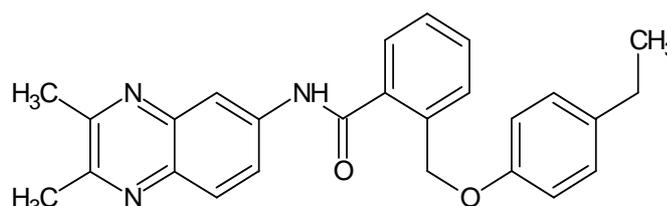
10

Le dérivé **2,3-di (furanes - 2-yl) -6 - (3-N, N-diéthylcarbamoyle-pipéridino) carbonylamino quinoxaline** (DC838) (11) est un immunosuppresseur, pouvant inhiber fortement la prolifération cellulaire induite par l'inhibition du cytochrome P450 (CypA) [75].



11

Les dérivés quinoxaliniques présentent aussi des caractères antiprotozoaires et sont représentés par une nouvelle **quinoxaline amide** (12), leur activité contre *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei brucei*, et *T. vaginalis* est légèrement moins puissante que les médicaments telle que la miltefosine [76].



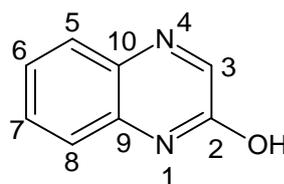
12

II.2- La quinoxalin-2-ol:

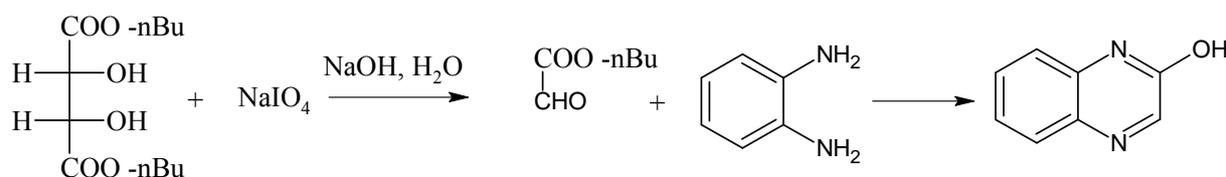
II.2.1- Données bibliographiques sur le produit de départ:

❖ les réactions de préparation :

Il s'agit de la quinoxaline avec un groupement hydroxyle sur le carbone situé en position 2.



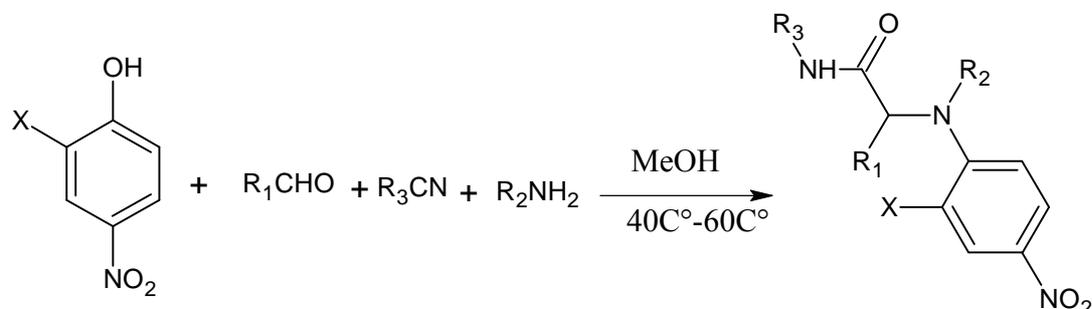
Le développement d'une méthode efficace pour la synthèse de la quinoxalin-2-ol est toujours un défi important pour les chimistes organiciens. Un certain nombre de stratégies de synthèse a été développé, la méthode la plus courante est de faire réagir un dialkyl tartrate avec un périodate à pH ajusté par l'hydroxyde de sodium, le mélange est ensuite condensé avec o-phénylènediamine^[77,78].



Equation de la réaction II.1

La réaction de Ugi-Smiles a permis la mise au point de la synthèse de dérivés de type quinoxalinone lors d'une séquence de réduction / cyclisation en milieu acide ou lors d'une étape de N-arylation d'amide. Ce procédé de synthèse est exploité dans la préparation des adduits N-arylaminoamides obtenus à partir du *para*-nitrophénol^[79].

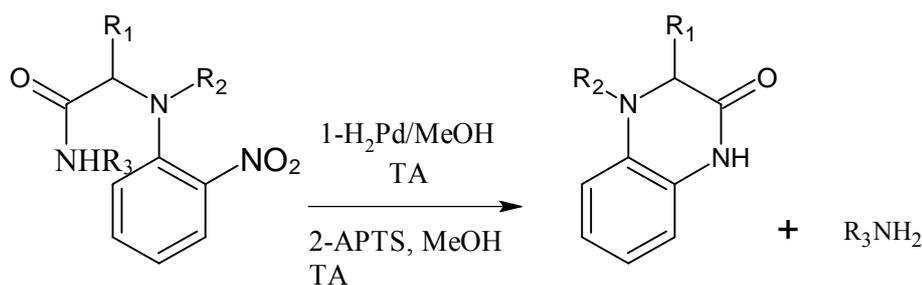
Il a été possible d'obtenir des *N*-arylaminoamides de manière aussi efficace par un couplage multicomposants entre un composé carbonylé, une amine primaire, un isonitrile et un *para*-nitrophénol^[79].



Equation de la réaction II.2

La synthèse des dérivés de type quinoxalinone lors d'une étape de réduction / cyclisation en milieu acide se fait comme suit :

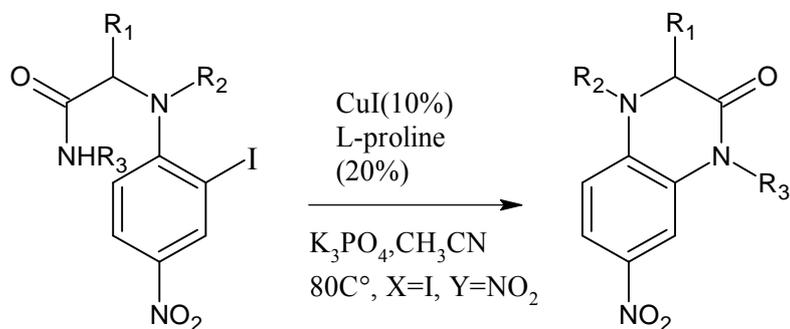
La réduction du *N*-arylaminoamide se fait dans le méthanol en présence d'un système de catalyseur Pd/C, sous atmosphère d'hydrogène et à température ambiante, ce qui conduit à l'aniline correspondante. Cette amine traitée par d'acide *para*-toluène sulfonique (APTS), dans le méthanol à température ambiante se cyclise pour donner la 3,4-dihydroquinoxalin-2-one, après élimination l'alkylamine^[79].



Equation de la réaction II.3

La synthèse des dérivés de type quinoxalinone lors d'une étape de *N*-arylation d'amide se fait par la réaction de *N*-arylation intramoléculaire de l'amide sur un noyau aromatique convenablement fonctionnalisé. La réaction de *N*-arylation d'amide catalysée par

d'iodure de cuivre (10%), en présence de *L*-proline (20%) et d'un équivalent de phosphate de potassium dans l'acétonitrile porté au reflux, conduit à un dérivé de quinoxalinone qui a été isolé avec un bon rendement^[79].



Equation de la réaction II.4

❖ **Caractérisation de la molécule de départ:**

Dans notre cas le produit de départ pour nos réactions de synthèse est la quinoxalin-4-ol commercialisée. Avant d'être sujette aux réactions de modifications sur son squelette aromatique hétérocyclique, elle a été caractérisée par UV-Vis, FTIR et RMN ^1H et ^{13}C .

L'analyse du spectre UV-Vis montre trois bandes principales, correspondant à des absorptions maximales situées à 346nm et 282nm (excitations $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$ respectivement), l'absorption maximale de $n \rightarrow \delta^*$ se produit à 242 nm.

Le spectre infrarouge montre la présence des vibrations d'élongations des C-H aromatiques vers 3076 cm^{-1} . Il présente aussi la bande de vibration d'élongation du groupement carbonyle à 1698 cm^{-1} , la bande de la vibration d'élongation du C=N se trouve à 1642 cm^{-1} , et celle de la vibration d'élongation du C=C à 1538 cm^{-1} valeur abaissée par la conjugaison.

Le spectre RMN du proton de cette molécule présente deux doublets correspondant aux protons de C5 et C8 à $\delta=7.7\text{ppm}$ pour l'un et à $\delta=7.3\text{ppm}$ pour l'autre, ainsi que deux triplets qui apparaissent vers 7.2ppm et 7.5ppm correspondant aux protons C6 et C7, on remarque aussi la présence d'un seul signal d'intégration de 1 proton à 8.12ppm relatif au proton C3 et d'un singulet vers 12.4ppm correspondant au OH.

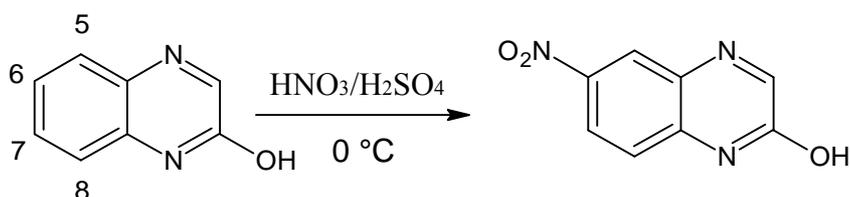
Pour le spectre RMN ^{13}C , la diminution de la densité électronique autour du carbone 2 accroît son déblindage et déplace vers un champ plus faible le déplacement chimique à une valeur de $\delta=154.5\text{ppm}$ ce qui est causé par la plus grande électronégativité de l'oxygène relativement à celle du carbone et de l'azote. Le déplacement du signal à $\delta=154.5\text{ppm}$ pour C3 est causé par la plus grande électronégativité de l'azote par rapport à celle du carbone, les autres signaux correspondent aux carbones du cycle benzénique.

II.2.2- Synthèse de la 6-nitroquinoxalin-2-ol :

A cause de leur grande densité électronique, les cycles benzéniques attirent les électrophiles, donc la réaction d'un électrophile avec la quinoxalin-2-ol est orientée vers le noyau benzénique^[47]. La nitration est la réaction de substitution électrophile la plus fréquente.

La voie de synthèse utilisée pour parvenir à un composé nitré est réalisée par l'acide nitrique en présence d'un excès d'acide sulfurique à basse température (0°C). Après 6h d'agitation, le produit attendu est obtenu avec un bon rendement.

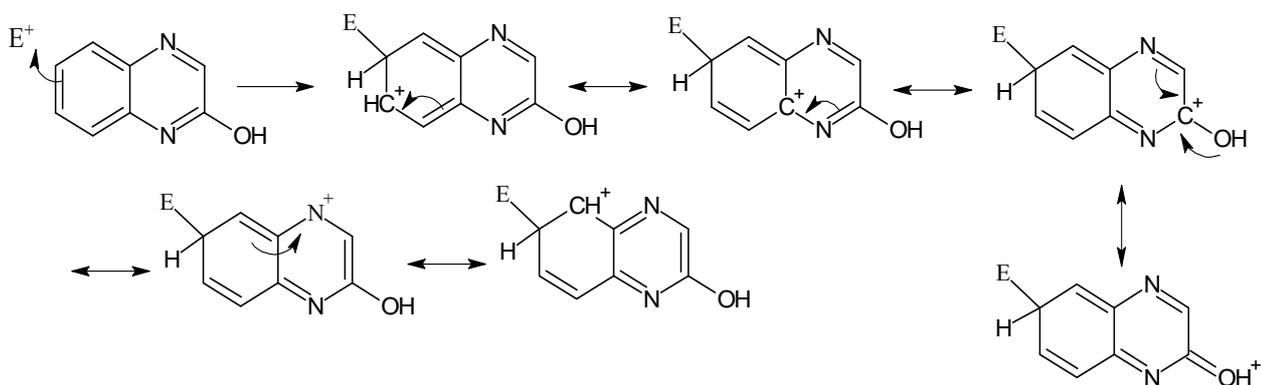
L'attaque électrophile par le groupement NO₂ s'effectue en position 6.



Equation de la réaction II.5

On peut comprendre pourquoi l'attaque se fait en position 6 en examinant les structures de résonance. L'orientation de la réaction sera donc déterminée par la stabilité relative des différents intermédiaires.

❖ Si l'attaque se fait en position 6 de même que pour la position 8.



❖ Si l'attaque se fait sur la position 5 de même que sur la position 7.

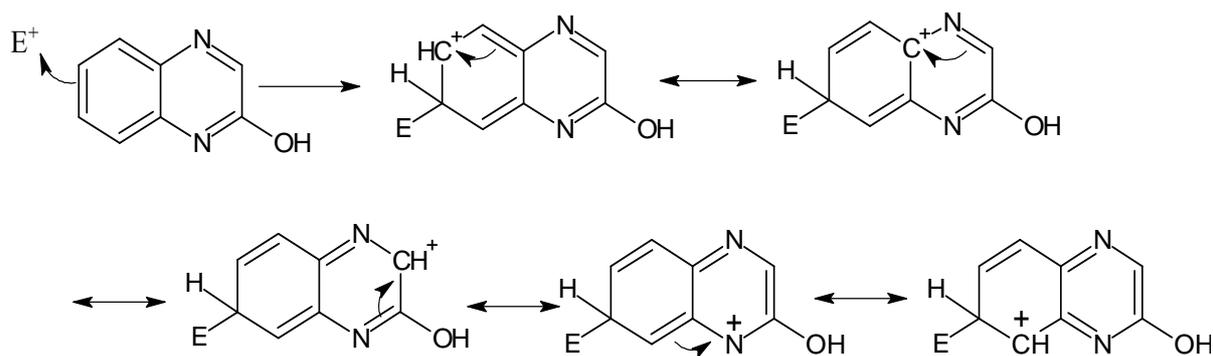


Fig. II.2: Schéma montrant les différentes attaques électrophiles proposées sur le noyau aromatique de la quinoxalin-2-ol.

Les formes mésomériques des carbocations résultant des attaques en 6 et 8 sont en nombre de six alors que les formes mésomériques du carbocation résultant de l'attaque en position 5 et 7 ne contiennent que cinq structures limites avec la présence d'une forme défavorable impliquant la charge positive sur l'azote. Les attaques en position 5 et 7 sont donc défavorables. En revanche l'attaque en position 8 est défavorable en raison de la diminution du caractère nucléophile de la double liaison causé par l'effet électroattracteur de l'azote N (1). Donc la position 6 est la plus favorable pour l'attaque électrophile.

Le produit de la nitration est caractérisé en UV-Vis, FTIR et RMN ^1H et ^{13}C .

L'analyse par UV-Vis montre que le spectre du produit nitré présente la même allure que celui du produit de départ. Mais on note un déplacement hypsochrome de 12nm pour le premier pic et de 18nm pour le deuxième ce qui prouve la réaction de nitration.

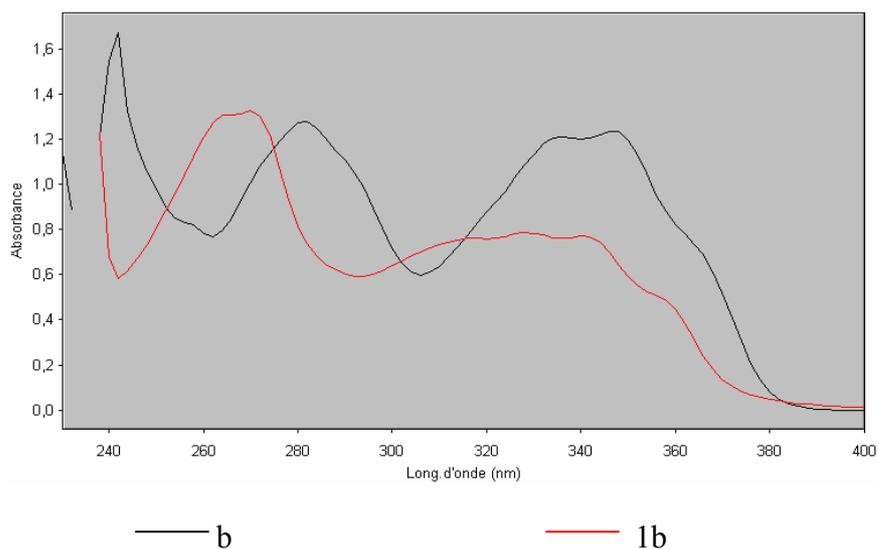


Fig.II.3: Spectres UV-Vis de la quinoxalin-2-ol (b) et de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b).

Son spectre FTIR montre clairement l'apparition de la bande caractéristique du groupement nitro c'est-à-dire de la vibration d'élongation asymétrique observée à 1481 cm^{-1} et celle de la vibration d'élongation symétrique observée à 1338 cm^{-1} .

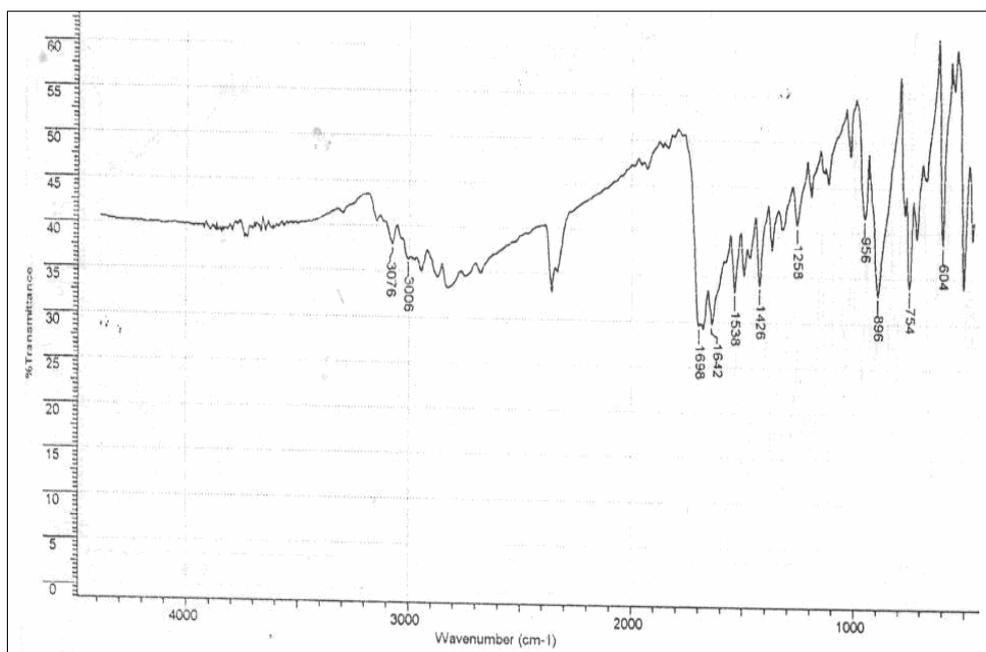


Fig.II.3: Spectre FTIR de la quinoxalin-2-ol (b).

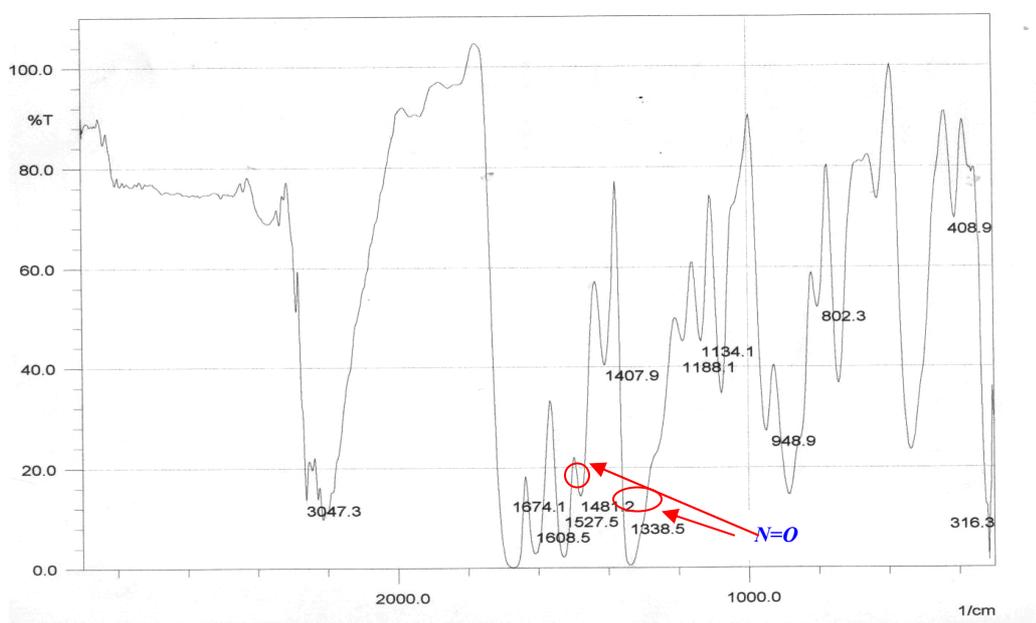


Fig.II.5: Spectre FTIR de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b).

Le spectre RMN ^1H montre la présence de 4 protons aromatiques (le proton correspondant en position 6 est absent), aussi les protons aromatiques de la quinoxalin-2-ol subissent un léger déblindage. On observe l'apparition de deux doublets vers 7.4ppm et vers 8.3ppm correspondant aux deux protons du C8 et C5, un singulet vers 8.1ppm correspondant au proton du C7 et un singulet vers 8.5ppm correspondant au proton du C3.

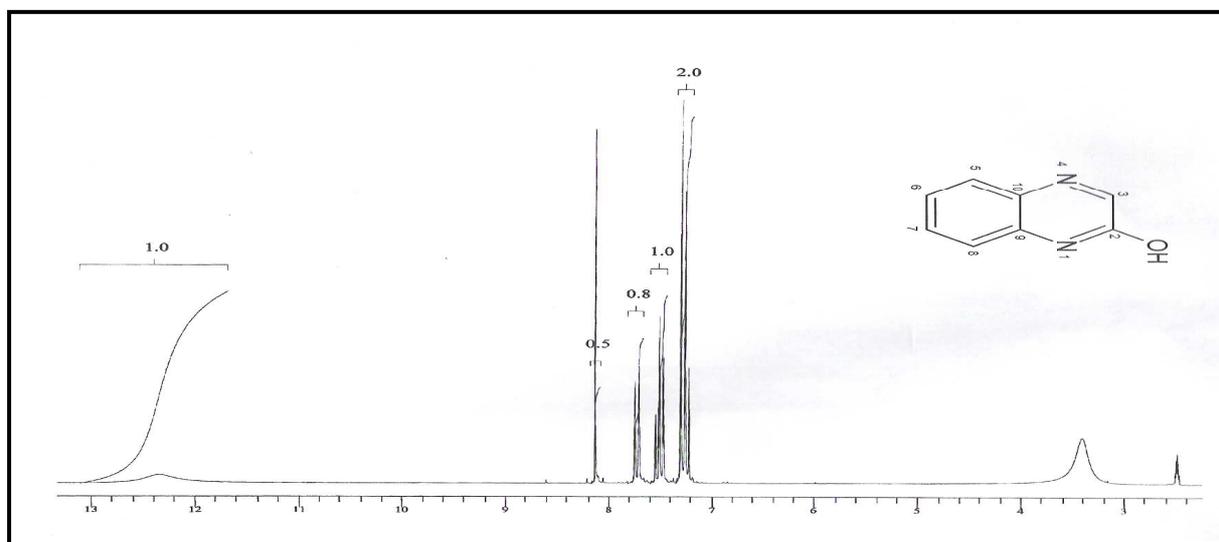


Fig.II.6: Spectre RMN ^1H de la quinoxalin-2-ol (b).

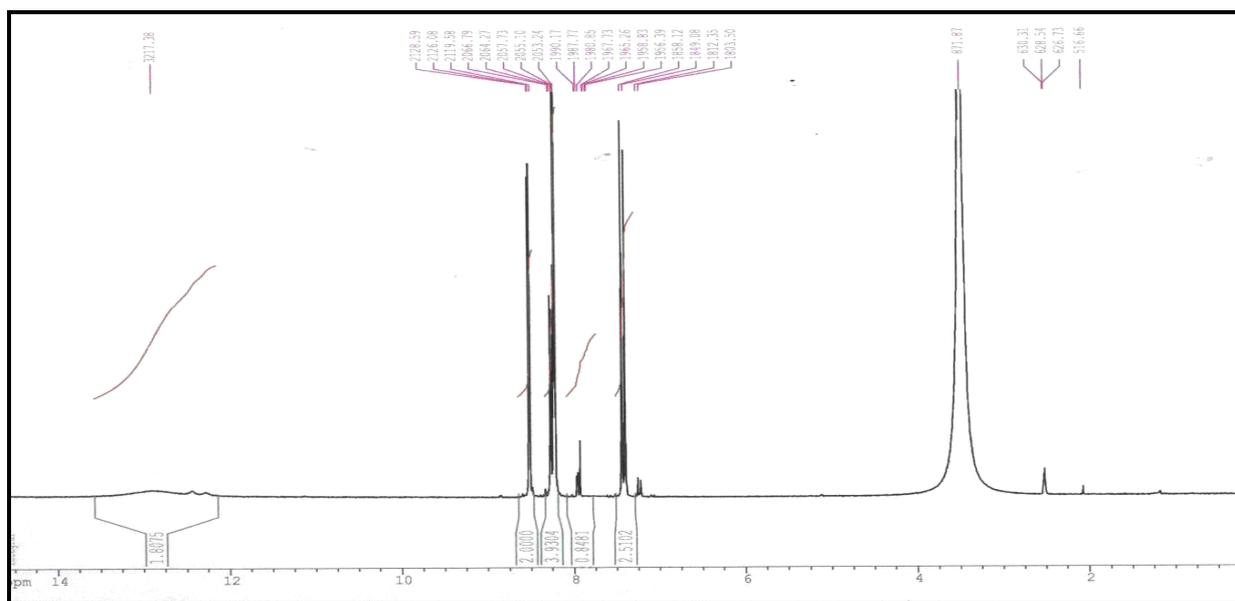


Fig.II.7: Spectre RMN ^1H de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b) .

Après ces caractérisations, ce produit a servi comme produit de départ dans une nouvelle série d'alkylation.

II.2.3- Alkylation de la 6-nitro-quinoxalin-2-ol :

La quinoxalin-2-ol peut exister sous deux formes tautomères : une forme cétonique *b1* et une forme énolique *b2*. D'une façon générale, cet équilibre s'établit rapidement en présence d'acide ou de base (il s'agit d'une catalyse acido-basique généralisée).

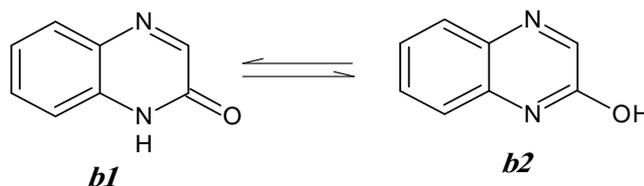


Fig. II.8 : Equation chimique montrant l'équilibre tautomère dans la quinoxalin-2-ol.

La quinoxalin-2-ol possède deux atomes d'azote intracyclique dans le noyau pyrazinique qui est plus pauvre en électrons relativement au benzène mais la densité

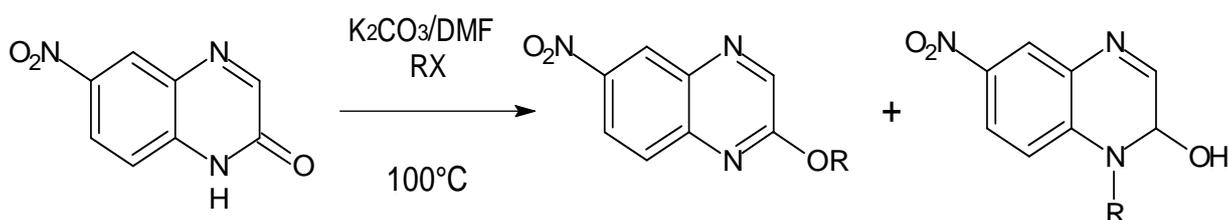
électronique du système est déplacée vers l'atome d'azote qui est plus électronégatif, le cycle pyrazinique devient plus réactif vis à vis des nucléophiles et en particulier vis à vis des réactions d'alkylations.

En raison du caractère acide les protons N1-H et C2-OH du composé peuvent facilement être arrachés.

L'existence d'un équilibre tautomère dans la molécule permet d'envisager une compétition entre la N-alkylation et la O-alkylation.

Ceci a été prouvé par des réactions d'alkylation qui ont donné des mélanges N-R et O-R.

Pour réaliser l'alkylation de la 6-nitroquinoxalin-2-ol, nous avons choisi la méthode classique qui utilise une base assez forte comme K_2CO_3 pour déprotonner la fonction hydroxyle ou la fonction amide avec différents halogénures d'alkyles. Une étude de l'influence de différents paramètres tels que la longueur de la chaîne ou la nature du dérivé halogéné, sur la sélectivité de la réaction de substitution a été conduite, afin de déterminer les conditions optimales pour obtenir le produit avec un meilleur rendement.



Equation de la réaction II.6

Les premiers essais ont été réalisés par chauffage à $100^\circ C$, dans ce cas la 6-nitroquinoxalin-2-ol est mise en présence d'un excès de carbonate de potassium, de DMF et de bromoéthane. L'alkylation n'est pas dirigée vers un seul sens et le produit obtenu est sous forme d'un mélange constitué de 50% de dérivé O-R et 50% de dérivé N-R. Ceci a été confirmé par CCM où deux taches sont observées puis sur la base des données spectrales RMN 1H , ^{13}C la structure des deux produits a été déterminée et montre bien la présence des protons et des carbones aliphatiques et aromatiques propres aux produits d'alkylation dans les sites N-R et O-R.

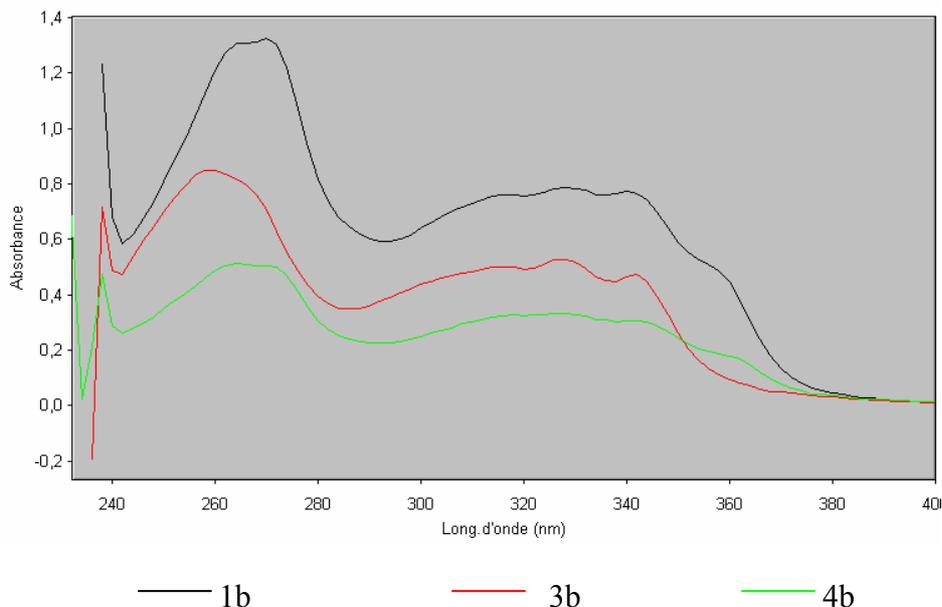


Fig.II.10: Spectres UV-Vis de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b), O-R (3b) et du N-R (4b).

Le produit obtenu sous forme d'une poudre est bien caractérisé par IR et par RMN.

Dans le spectre FTIR on ne peut voir la disparition des groupements N-H en raison de la bande OH large associée à l'humidité et qui a masqué son apparition. Il présente une bande à 1671cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation du groupement carbonyle. Les bandes des vibrations d'élongations des CH de la chaîne alkyle se trouvent à 2956cm^{-1} .

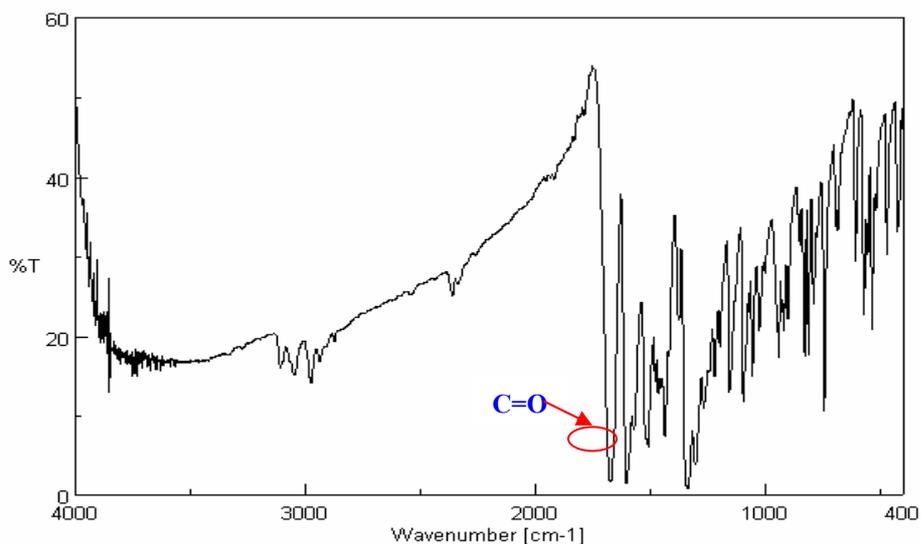


Fig.II.11: Spectre IR du dérivé N-R.

La RMN ^{13}C montre un déplacement chimique du proton CH_2 qui apparaît vers 37.7ppm correspondant au dérivé N- alkylé.

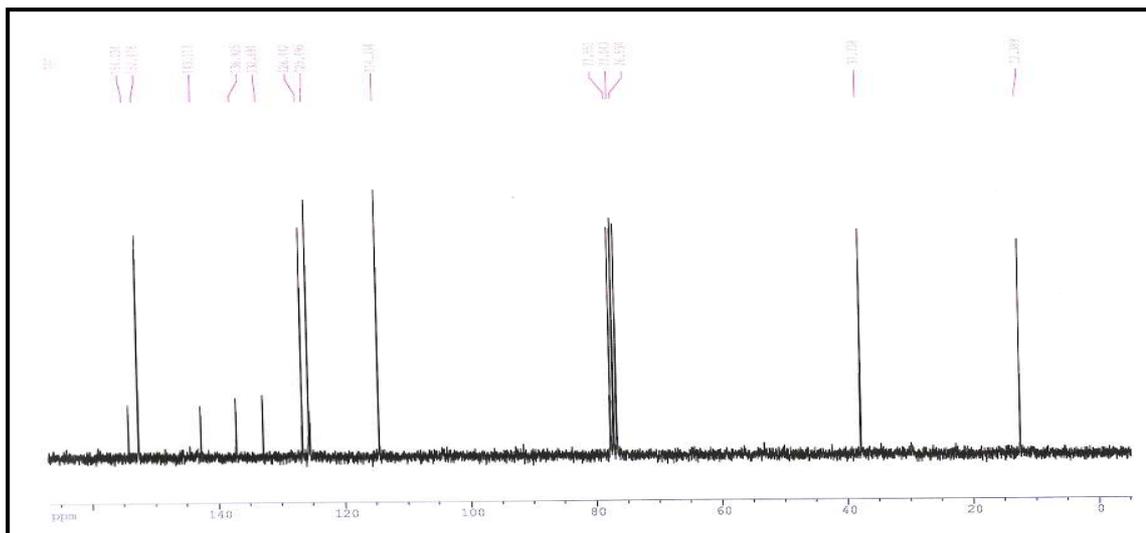


Fig.II.12: Spectre RMN ^{13}C du dérivé N-R.

Le composé sous forme de cristaux correspond à un O-alkylé, sa structure est bien confirmée en FTIR et RMN ^{13}C . Le spectre FTIR de ce composé montre la disparition de la bande caractéristique du groupement carbonyle et présente une bande large à 1130 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation du groupement éther C-O-C.

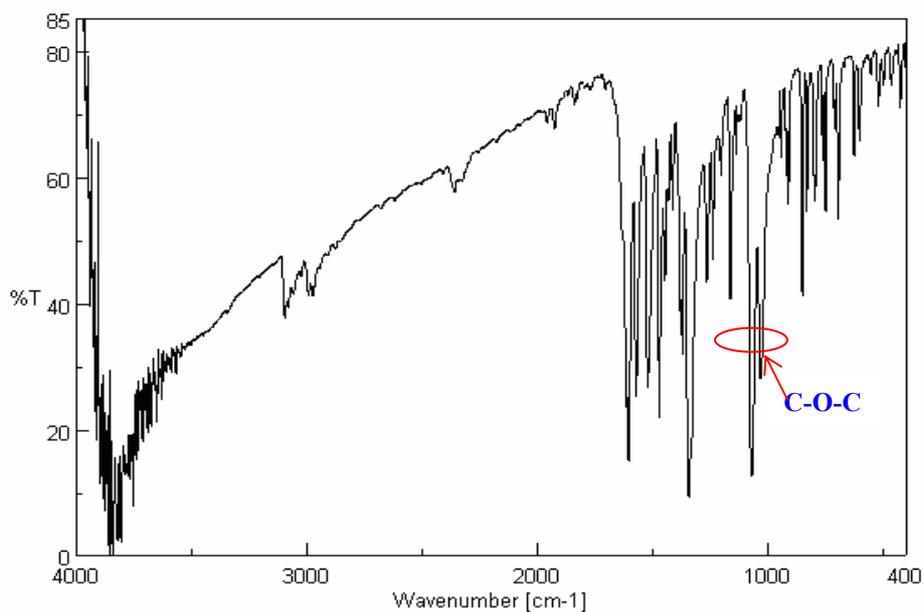


Fig.II.13: Spectre FTIR du dérivé O-R.

En RMN ^{13}C le composé est caractérisé par un déplacement des protons O-CH₂ à $\delta=63.3\text{ppm}$.

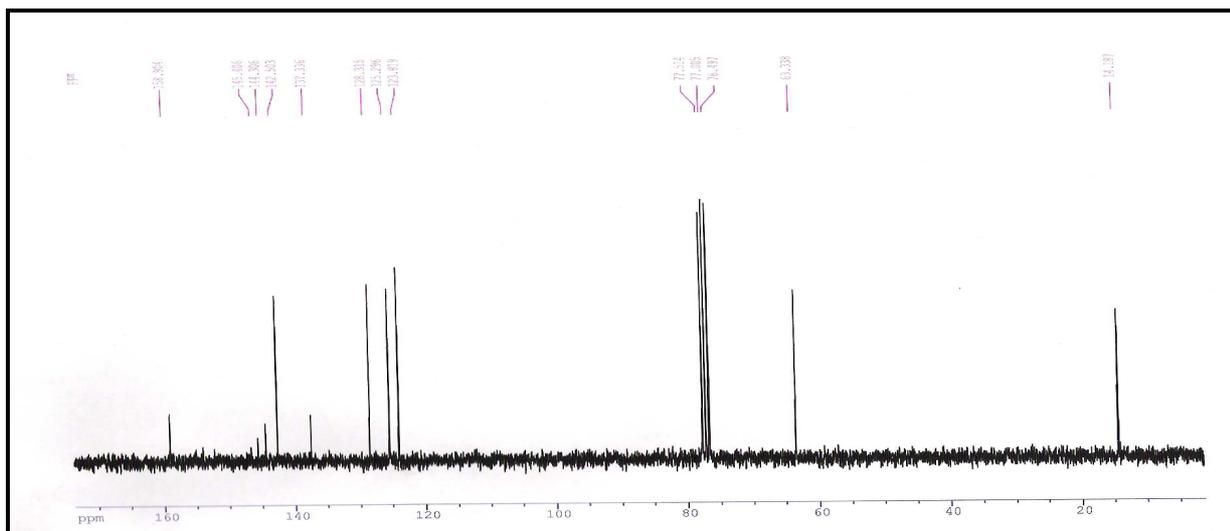


Fig.II.14: Spectre RMN ^{13}C du dérivé O-R.

Pour améliorer la sélectivité de la réaction de substitution, nous avons alors modifié les conditions décrites, en réduisant de façon importante la quantité de DMF. Le produit obtenu est toujours sous forme d'un mélange.

Toutefois, les conditions pouvaient être encore améliorées par le passage d'un carbonate de potassium à un carbonate de césium, mais le résultat obtenu n'était pas meilleur que celui observé lors de l'utilisation du carbonate de potassium avec un rendement pas convenable. Nous ne pouvons faire intervenir le facteur stérique de l'atome de brome pour expliquer ces résultats.

Il nous faut donc choisir un type nucléophile qui réagira de façon préférentielle avec l'azote ou avec l'oxygène. Nous avons donc testé la réactivité des iodures d'alkyles et les chlorures d'aminoalkyle selon la méthode décrite précédemment avec le K_2CO_3 comme base puisqu'il donnait les meilleurs rendements.

Avec l'iodure de méthyle, nous n'avons obtenu qu'un dérivé O-R. L'analyse par spectroscopie infrarouge confirme la réaction d'alkylation par la disparition du carbonyle et l'apparition d'une bande de vibration d'élongation du C-O-C à 1014 cm^{-1} .

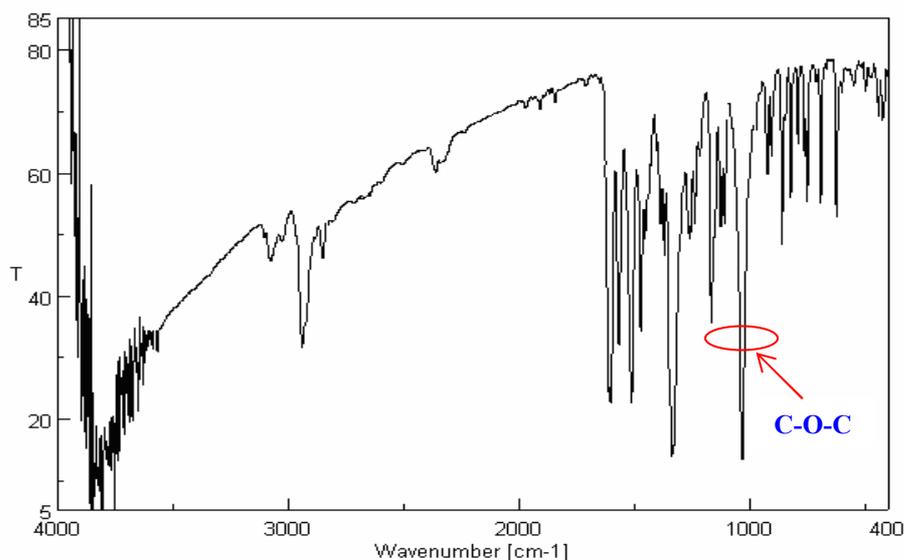


Fig.II.15: Spectre FTIR du dérivé O-Méthyl.

La RMN du proton confirme l'apparition du dérivé O-R par un déplacement du O-CH₃ à $\delta=3.6\text{ppm}$.

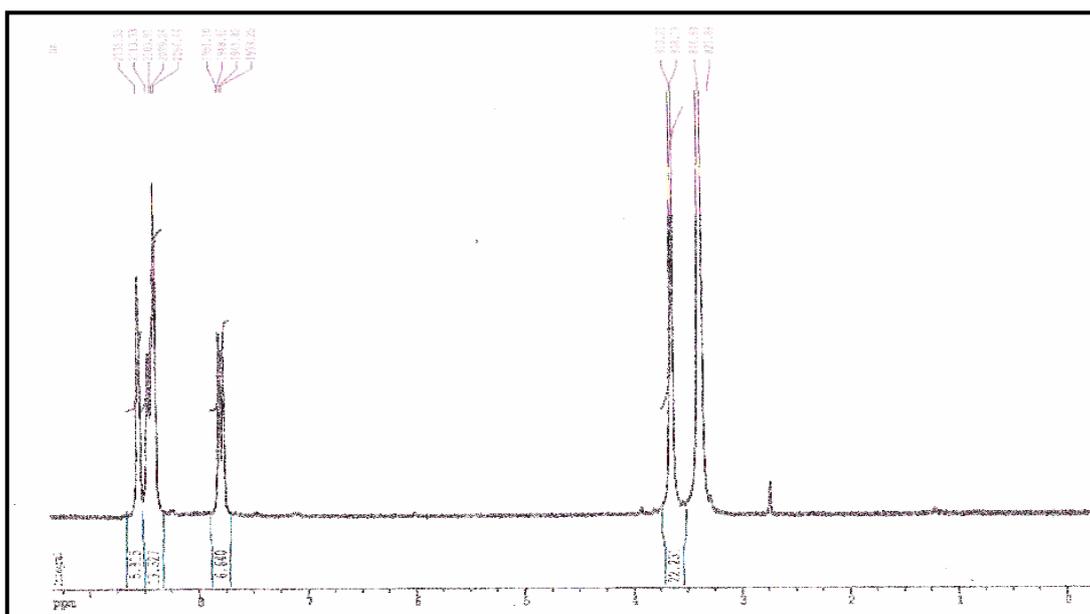
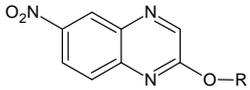
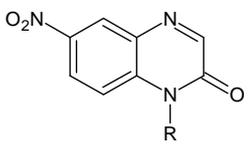


Fig.II.16: Spectre RMN ¹H du dérivé O-Méthyl.

En revanche, avec le 2-chloro-diméthylaminoéthane, il n'y a pas eu de réaction, ceci peut s'expliquer peut être par un manque de réactivité des halogénures d'alkyles utilisés (chlorures) dans les conditions opératoires choisies. Les composés préparés ainsi que les rendements sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau.II.1 : Les dérivés de la 6-nitroquinoxalin-2-ol préparés ainsi que leurs

rendements.

	<i>Composé</i>	<i>R</i>	<i>Rendement %</i>
	2b	$-CH_3$ [X=I]	70.64
	3b	$-CH_2CH_3$ [X=Br]	30.7
	4b	$-CH_2CH_3$ [X=Br]	30.7

Les valeurs des rendements obtenus dépendent de la réactivité de l'halogénure d'alkyle. Il serait souhaitable de tenter d'autres méthodes d'alkylations, entre autres la catalyse par transfert de phase qui est préconisée lorsque la réactivité des composants de la réaction est faible (conditions plus vigoureuses).

I.2.4- Partie expérimentale :

I.2.4.A- Méthodes d'identification (voir I.2.4-A)

I.2.4.B- Mode opératoire :

Produit de départ :



Aspect : poudre

Couleur : jaunâtre

Masse moléculaire : 146g/mol

Point de fusion : 273 C°

Rf = 0,85 (éluant A)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1}$ = 346 nm; $\lambda_{\max 2}$ = 282 nm; $\lambda_{\max 3}$ = 242 nm.

FTIR (KBr)

$\nu_{\text{CH ar}}$ = 3076 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ = 1698 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=N}}$ = 1642 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=C}}$ = 1538 cm^{-1} .

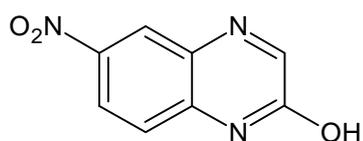
RMN ^1H (DMSO)/TMS

7.2ppm (td, 1H, J=1.4-8.4Hz); 7.3ppm (d, 1H, J=8Hz); 7.5ppm (td, 1H, J=1.4-8Hz); 7.7ppm (dd, 1H, J=1.4-8.2Hz); 8.12ppm (s, 1H); 12.4ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

154.5ppm (C2); 151.5ppm (C4); 131.9ppm (C9); [131.7ppm, 130.6ppm, 128.7ppm, 123.1ppm, 115.6ppm] (C Benzène).

6-nitroquinoxalin-2-ol (1b)



Dans un ballon de 100 ml, on introduit 0.78 g (5mmol) de quinoxalin-4-ol, 6 ml d'acide sulfurique. Le ballon est mis dans un bain de glace sous agitation jusqu'à la dissolution, on ajoute goutte à goutte 0.6 ml d'acide nitrique pendant 2h puis on retire le bain de glace, et laisse le mélange à température ambiante pendant 4h. Ensuite le mélange réactionnel est versé dans 200 ml d'eau et porté sous agitation jusqu'à précipitation complète du produit, le produit est filtré et lavé abondamment à l'eau, 0.73 g de produit est recueilli sous forme d'une poudre de couleur jaune clair avec un rendement de 77 %.

Tf = 292-293 °C

Rf = 0,91(éluant A)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 328 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 270 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 3} = 238 \text{ nm}$.

FTIR(KBr)

$\nu_{\text{C-NH}} = 3225 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CHar}} = 3074 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=O}} = 1674 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1608 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1527 \text{ cm}^{-1}$;

$\nu_{\text{as N=O}} = 1481 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1338 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl₃/DMSO)/TMS :

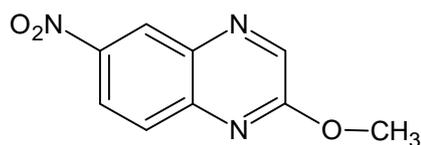
7.4ppm (d, 1H, J=9 Hz); 8.3ppm (dd, 1H, J=2.4-9 Hz); 8.1ppm (s, 1H); 8.5ppm (s, 1H); 12.4ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (CDCl₃/DMSO)/TMS

155.1ppm (C2); 153.9.0ppm (C4); 142.9ppm (C9), 137.2ppm, [131.2ppm, 125.2ppm, 124.8.2ppm, 117.03ppm] (C Benzène).

Le produit nitré est préparé en quantité suffisante pour réaliser les différentes réactions d'alkylation.

2-Méthoxy-6-nitroquinoxaline (2b)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit (**1b**) dans 15 ml de DMF sous une forte agitation jusqu'à dissolution. Ensuite, on ajoute 1.13g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.32 ml (4 mmol) d'iodure de méthyle. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h. Ensuite, le mélange est versé dans l'eau. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau ; 0.57g de produit est recueilli, soit un rendement de 71% sous forme d'une poudre orange clair.

Tf = 217-218 °C

Rf = 0.83 (éluant A)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1} = 326 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 2} = 270 \text{ nm}$; $\lambda_{\max 3} = 238 \text{ nm}$.

FTIR(KBr)

$\nu_{\text{CHar}} = 3076 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{CH alkyl}} = 2928 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=N}} = 1600 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C=C}} = 1550 \text{ cm}^{-1}$;

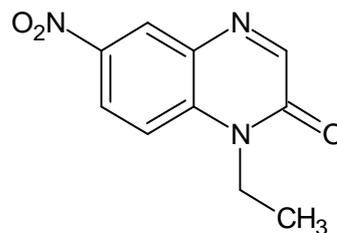
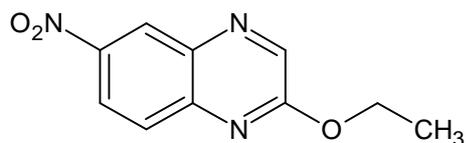
$\nu_{\text{as N=O}} = 1504 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s N=O}} = 1346 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C-O-C}} = 1014 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (DMSO)/TMS :

3.6ppm (s, 3H); 7.8ppm (dd, 1H, J=2.7-9.24 Hz); 8.2ppm (s, 1H); 8.4ppm (d, 1H, J=9.52 Hz); 8.5ppm (s, 1H).

2-Ethoxy-6-nitroquinoxaline (3b)

1-Ethyl-6-nitroquinoxalin-2-one (4b)



Dans un ballon de 100 ml, on dissout 0.76g (4 mmol) de produit **(1b)** dans 15 ml de DMF sous une forte agitation jusqu'à dissolution. Ensuite, on ajoute 1.13g (8mmol) de K_2CO_3 et 0.27 ml (4 mmol) de bromure d'éthyle. Le mélange réactionnel est porté à 100°C pendant 6h. Ensuite, le mélange est versé dans l'eau. Le précipité formé est filtré puis lavé à l'eau. Pour séparer les produits nous avons solubilisé le mélange dans le chloroforme pendant 24 heures et après évaporation du solvant, le mélange est traité par le méthanol. 0.35 g de produit **(3b)** pur est recueilli, soit un rendement de 31% sous forme de cristaux jaunes. On récupère également 31 % du composé **(4b)** sous forme d'un solide rouge foncé

2-Ethoxy-6-nitro-quinoxaline (**3b**)

Tf=151-153 °C

Rf=0.75 (éluant B)

UV-Vis (Ethanol)

$\lambda_{\max 1}$ =326 nm; $\lambda_{\max 2}$ =260 nm; $\lambda_{\max 3}$ =238 nm.

FTIR(KBr)

ν_{CHar} =3076 cm^{-1} ; $\nu_{CH\ alkyl}$ =2928 cm^{-1} ; $\nu_{C=N}$ = 1610 cm^{-1} ; $\nu_{C=C}$ =1556 cm^{-1} ;

$\nu_{as\ N=O}$ =1500 cm^{-1} , $\nu_{s\ N=O}$ =1364 cm^{-1} ; ν_{C-O-C} =1114 cm^{-1} .

RMN 1H (CDMSO)/TMS :

1.5ppm (t, 3H, J=7.09 Hz); 4.6ppm (q, 2H, J=7.07 Hz); 7.8ppm (d, 1H, J=9.1 Hz); 8.45ppm (dd, 1H, J=2.5-9.16 Hz); 8.6ppm (s, 1H); 8.9ppm (s, 1H).

RMN ^{13}C (DMSO)/TMS

158.90ppm (C2); 145.0ppm (C3); 144.3ppm, 142.5ppm, 137.3ppm(C), 128.3ppm, 125.2ppm,

123.8ppm (C Benzène); 63.3ppm (CH₂); 14.18ppm (CH₃).

1-Ethyl-6-nitro-quinoxalin-2-one (4b)

Tf = 112-114 °C

Rf=0.75 (éluant B)

UV-Vis(Ethanol)

$\lambda_{\max 1}$ =326 nm; $\lambda_{\max 2}$ =264 nm; $\lambda_{\max 3}$ =238 nm.

FTIR(KBr)

ν_{CHar} =3109 cm⁻¹; $\nu_{\text{CH alkyl}}$ =2956cm⁻¹ $\nu_{\text{C=O}}$ =1671 cm⁻¹; $\nu_{\text{C=N}}$ = 1595cm⁻¹; $\nu_{\text{C=C}}$ =1510 cm⁻¹;
 $\nu_{\text{as N=O}}$ =1490 cm⁻¹, $\nu_{\text{s N=O}}$ =1364 cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO)/TMS :

1.4ppm (t, 3H, J=7.21Hz); 4.35ppm (q, 2H, J=7.21 Hz); 7.5ppm (d, 1H, J=9.31 Hz); 8.4ppm (dd, 1H, J=2.5-9.27 Hz); 8.5ppm (s, 1H); 8.75ppm (s, 1H).

RMN ¹³C(DMSO)/TMS

154.03ppm (C=O); 152.4ppm (C3); 136.9ppm (C9); [132.6ppm, 126.4ppm, 125.4ppm, 114.33ppm] (C Benzène); 37.7ppm (CH₂); 12.38ppm (CH₃).

CHAPITRE III

ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

III.1- Les agents antibiotiques :

III.1.1-Historique :

Pour soigner les maladies infectieuses, les antibiotiques sont les outils efficaces les plus fréquemment utilisés. Ces composés qui altèrent le fonctionnement normal des bactéries peuvent inhiber leur croissance (antibiotique bactériostatique) ou les détruire (antibiotique bactéricide). L'action bactériostatique de certains microorganismes envers d'autres avait été observée en 1877 par Pasteur et Joubert (à propos du bacille charbonneux). En 1897, Ernest Duchesne démontre qu'une moisissure appelée *Penicillium glaucum* est capable d'inhiber la croissance des bactéries. Bien qu'il ne retire aucune application pratique de ses observations, il est le précurseur de l'ère des antibiotiques. En 1928, Alexander Fleming publie des travaux dans lesquels il décrit qu'un bouillon filtré obtenu à partir de *Penicillium notatum* présente une activité antibactérienne et n'est pas toxique pour l'homme. Il appelle ce produit pénicilline^[80]. En raison du manque d'enthousiasme de la communauté scientifique, il faudra attendre jusqu'en 1939 pour voir les premières productions en masse de pénicillines par Florey et Chain^[81]. Ces productions sont testées sur l'homme pour la première fois en 1941 et utilisées en thérapie à grande échelle dans les années qui suivent.

III.1.2-Définition et mode d'action des antibiotiques :

L'analyse étymologique du mot antibiotique nous donne "s'opposant à la vie". Au cours des années, la définition de ce terme se précisa pour devenir, en 1947, "toute substance chimique, produite par un micro-organisme, ayant la propriété d'inhiber la croissance et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes d'une manière spécifique"^[82,83]. Avec la venue du génie chimique, la "substance" n'avait plus à provenir d'un organisme vivant pour faire partie de la définition mais pouvait aussi bien être produite totalement ou en partie de façon synthétique. D'une façon générale, un antibiotique doit, pour être efficace, agir sur une ou plusieurs cibles dans la cellule bactérienne (ex. la synthèse de la paroi), atteindre ces cibles (ex. traverser la membrane externe) en concentration suffisante et éviter l'inactivation, par des substances produites par la bactérie en réponse à son agression (ex. les β -lactamases produites en réponse à la présence des molécules antibiotiques β -lactames).

III.1.3-Mécanisme d'action des antibiotiques :

La connaissance du mode d'action des antibiotiques se révèle extrêmement utile car elle ouvre la voie à la découverte d'autres molécules ^[84]. Les principaux mécanismes d'action se situent au niveau de la synthèse de la paroi cellulaire, de la réplication de l'ADN, de la transcription, de la synthèse protéique et de la synthèse nucléique de la bactérie (voir Fig III.1).

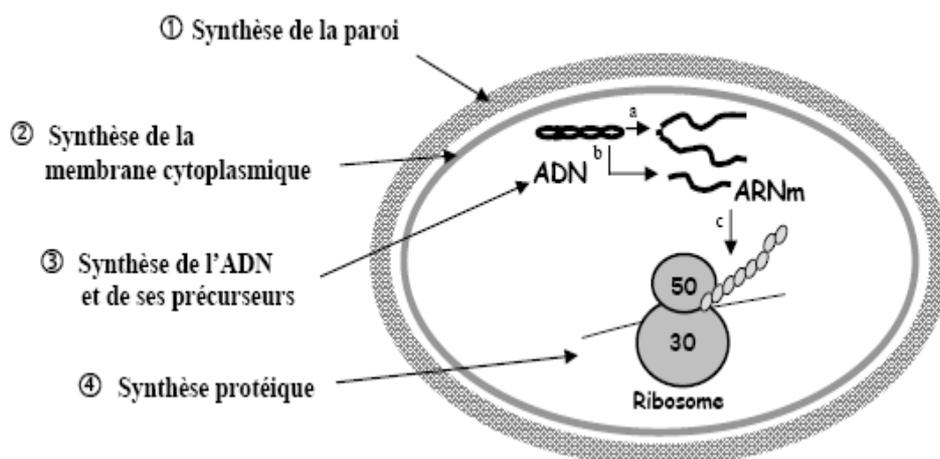


Fig.III.1 : Mode d'action des antibiotiques.

(a : réplication de l'ADN, b : transcription de l'ADN, c : traduction de l'ARNm).

Souvent un antibiotique se comporte comme un analogue de substrat, mais certains peuvent agir au niveau des co-enzymes, parfois par analogie stérique, ou plus souvent en inhibant leur synthèse. Ces composés devraient alors être actifs sur un grand nombre de cellules. La sélectivité de leur pénétration peut expliquer la spécificité de leur action sur certains microorganismes.

III.1.3.A-Action sur la paroi bactérienne :

La paroi est l'enveloppe externe de la cellule bactérienne. Elle joue un rôle essentiel dans la protection des bactéries contre les agents extérieurs et le maintien d'une pression osmotique intracellulaire élevée, ceci grâce à la présence d'une substance complexe appelée « peptidoglycane ». Cette substance conférant à la paroi sa rigidité et sa résistance mécanique^[85], est formée d'un polymère composé de chaîne linéaire de N-acétyl -D-

glycosamine et d'acide N-acétyl- muramique. Ces chaînes linéaires sont reliées par un acide D-glutamique et un acide diamine (L- lysine ou acide diaminopimélique).

Suivant l'organisation du peptidoglycane dans la paroi, on distingue deux groupes principaux correspondant aux bactéries à gram-positif et à gram-négatif ^[86]. La paroi des bactéries à Gram positif est composée d'épaisses couches de peptidoglycane, les bactéries à Gram négatif possèdent une couche plus fine de peptidoglycane surmontée d'une membrane externe sur laquelle sont fixés des lipopolysaccharides. Le peptidoglycane est localisé dans l'espace périplasmique, entre les membranes cytoplasmique et externe comme montre la figure III.2 ^[87].

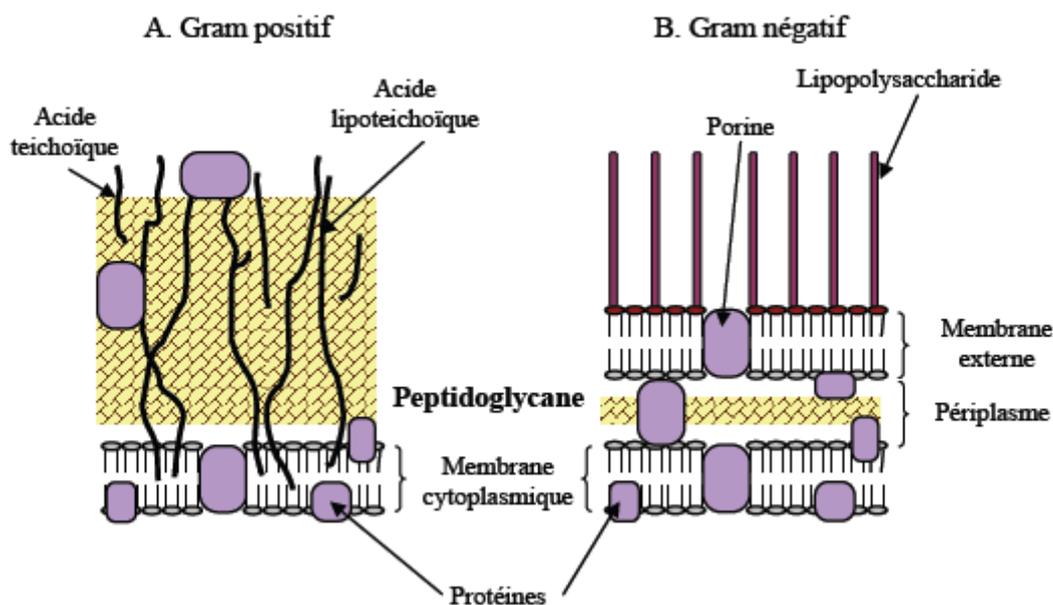


Fig.III.2 : Représentation schématique de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif (A) et à Gram négatif (B) ^[87].

La synthèse du peptidoglycane est un phénomène complexe composé de nombreuses étapes à la fois cytoplasmiques, membranaires et périplasmiques ^[88]. La biosynthèse du peptidoglycane fait intervenir de nombreuses réactions que l'on peut regrouper en quatre étapes :

- (1) élaboration des précurseurs du peptidoglycane, au niveau du cytoplasme
- (2) transport de ces précurseurs au travers de la membrane cytoplasmique
- (3) incorporation des unités de disaccharides-pentapeptide sur le squelette du peptidoglycane existant, à la face externe de la membrane cytoplasmique
- (4) réticulation des polysaccharides linéaires pour aboutir au peptidoglycane réticulé.

La biosynthèse de la paroi peptidoglycan (voir Fig III.3) montre les sites d'action de cinq antibiotiques (barres ombrées; 1=fosfomycine; 2=cyclosérine; 3=bacitracine; 4=vancomycine; 5=antibiotiques de type β -lactame). Le bactoprénol(BP° est le transporteur de la membrane lipidique qui transporte les blocs de constructeur à travers la membrane cytoplasmique; M=acide N-acétylmuramique; Glc=glucose; NAcGlc ou G=N-acétylglucosamine.

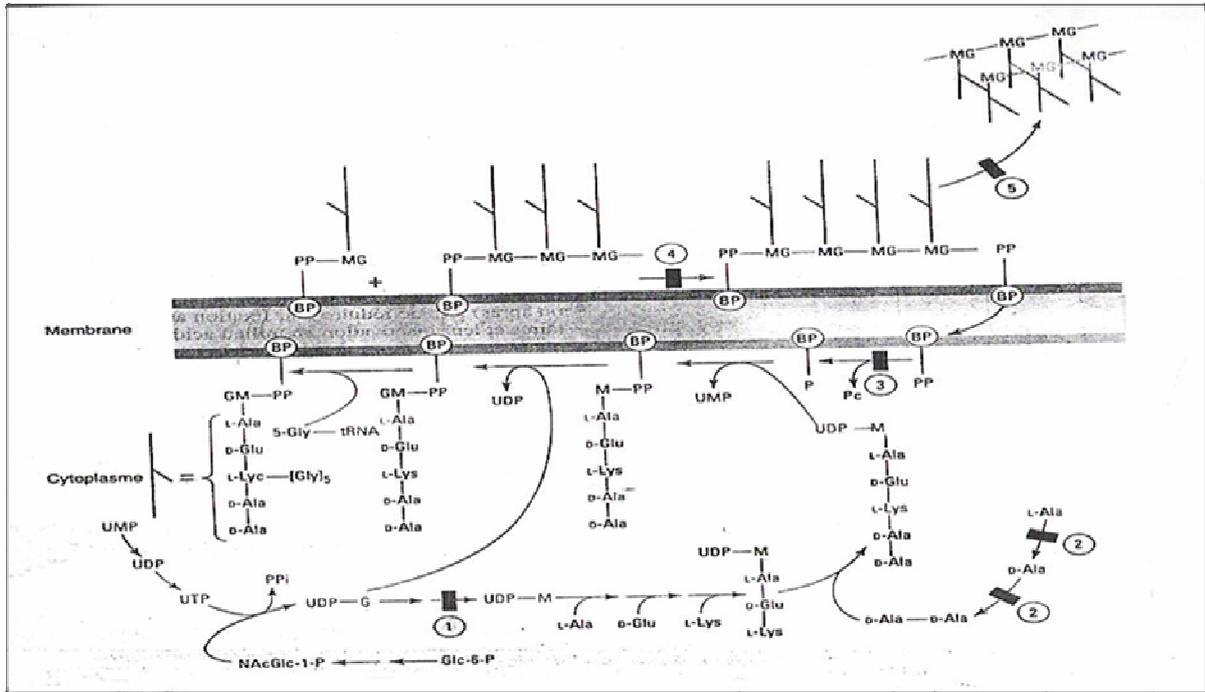


Fig.III.3 : Biosynthèse de la paroi peptidoglycan avec les sites d'action de cinq antibiotiques^[89].

➤ **Inhibition de la synthèse des précurseurs du peptidoglycane :**

❖ **La fosfomycine** est un antibiotique bactéricide produit par différentes espèces de bactéries du genre *Streptomyces* mais aussi par *Pseudomonas syringae*. Cette molécule agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, elle se comporte comme un analogue du phosphoénolpyruvate et inhibe la pyruvyl-transférase (ou pyruvate-UDP-N-acétylglucosamine-transférase), ce qui a pour conséquence de bloquer la formation d'acide N-acétylmuramique, l'un des constituants essentiels du peptidoglycane de la paroi bactérienne^[90].

❖ **D-cyclosérine**, isolée de *Streptomyces orchidaceus*, est un analogue structural de la D-alanine et inhibe la D-alanyl-D-alanine synthétase, enzyme intervenant dans la construction de la paroi bactérienne [91].

➤ **Inhibition du transfert des précurseurs :**

❖ **La bacitracine** est un complexe d'antibiotiques polypeptidiques produit par *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis* et qui interfère sur le transfert des précurseurs du peptidoglycane sur un lipide porteur, permettant leur transport à la membrane plasmique [92].

➤ **Inhibition de l'étape de transglycosylation et de transpeptidation :**

❖ Les antibiotiques possédant ce type d'action sont de type « **β -lactamines** » et sont constitués comme leur nom l'indique d'un cycle β -lactame. Cette famille comprend les pénicillines (**ampicilline**) et les **céphalosporines** [93]. Le cycle β -lactame est la partie efficace de la molécule. L'action de ces composés inhibe l'activité des transpeptidases impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne [94,95].

❖ **les glycopeptides**, sont des molécules complexes isolés par fermentation des streptomyces, constituées d'un heptapeptide cyclique sur lequel viennent se greffer des sucres: comme le glucose greffé sur la vancosamine dans la **vancomycine**. Les glycopeptides sont des inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Ils inhibent les étapes de transglycosylation et de transpeptidation, nécessaires à la synthèse du peptidoglycane fonctionnel [96].

III.1.3.B-Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique :

Ce groupe d'antibiotiques inhibe de façon sélective la synthèse des protéines bactériennes. Leur sélectivité provient de leur action vis-à-vis des ribosomes bactériens qui se composent d'une sous-unité 50S et d'une sous-unité 30S, tandis que les ribosomes des mammifères possèdent une sous-unité 60S et une sous-unité 40S [97].

Les protéines sont synthétisées à partir des acides aminés au niveau des ribosomes qui migrent le long des brins d'acide ribonucléique messager (ARNm). Lors de la première étape de la synthèse protéique, les codons successifs passent par un site accepteur A (aminoacyl) ou l'ARN de transfert (ARNt) se fixe pour transférer le nouvel acide aminé nécessaire à l'élongation de la chaîne peptidique [98].

Différentes classes d'antibiotiques inhibent la synthèse protéique bactérienne au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction : l'initiation, l'élongation

(transpeptidation) et la terminaison (translocation). Il existe différents types d'inhibiteurs suivant qu'ils se lient à la sous-unité 30S ou 50S comme montre la figure III.4 [99,100].

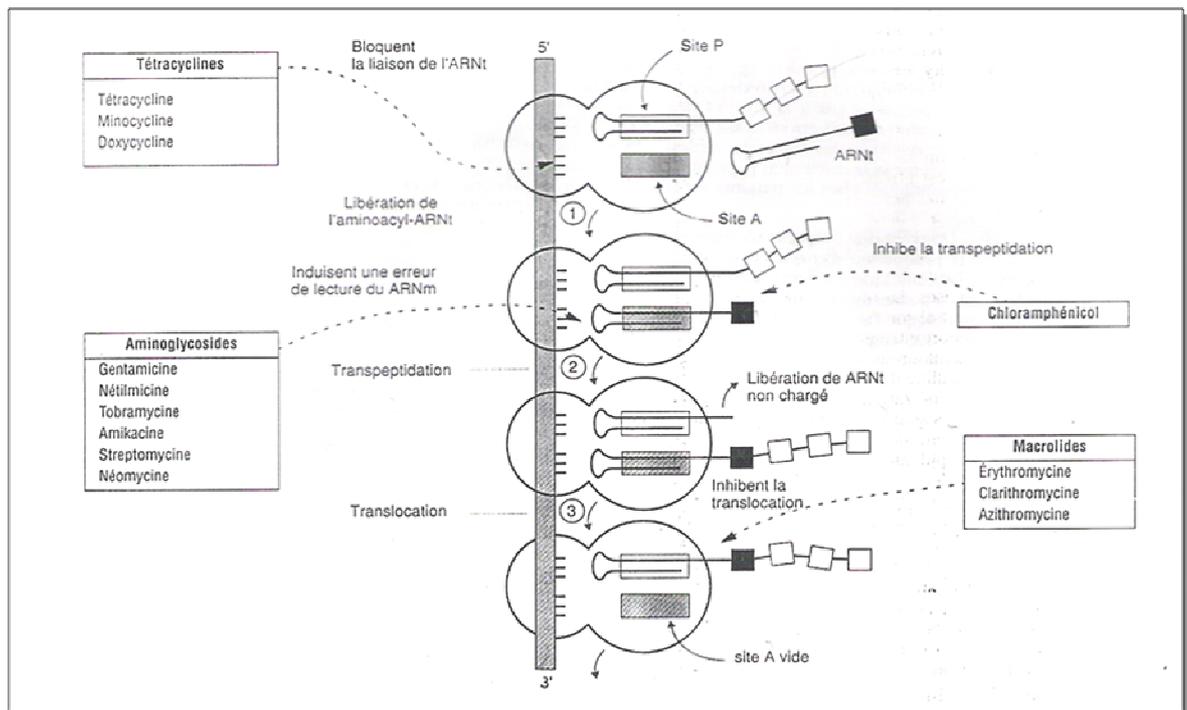


Fig.II.4 : Les différentes classes d'antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique [98].

➤ Inhibiteurs se fixant sur la sous-unité 30S : ARNm

Les composés ayant ce mode d'action agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes en se fixant sur la sous-unité 30S de ceux-ci et en empêchant la pénétration ou la fixation du complexe ARNt – acide aminé. Cela engendre une erreur de lecture du code génétique et provoque l'incorporation d'acides aminés ne correspondant pas à l'information des codons de l'ARNm. La production de telles protéines dites « non sens » est létale.

Les antibiotiques de type « **tétracycline** » et de type « **aminoside ou aminoglycoside** » ont de telles propriétés [101].

❖ **Les tétracyclines**, antibiotiques isolés de souches de *Streptomyces* et aujourd'hui obtenus par hémisynthèse. les tétracyclines se lient de manière réversible à la sous-unité 30S du ribosome bactériens, bloquant ainsi la liaison de l'aminocyl-ARNt au site accepteur du complexe ARNm-ribosome. Ceci empêche l'addition d'acides aminés au peptide en voie d'accroissement [88].

❖ *Les aminoglycosides*, antibiotiques induisent des erreurs de lecture au cours du processus de reconnaissance entre certains codons du mARN et les anticodons des tARN correspondants qui entraînent la synthèse des protéines non-fonctionnelles ^[102].

➤ **Inhibiteurs se fixant sur la sous-unité 50S :**

Trois familles d'antibiotiques agissent sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien. Ce sont les antibiotiques de type « **phénicolé** », « **macrolide** » et « **polypeptide** ».

❖ *Les chlorophénicolés*. Ces composés bloquent la croissance du peptide sur le ribosome bactérien par inhibition de la transpeptidation (formation des liaisons peptidiques entre les acides aminés). En effet, ils se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens et empêchent la liaison du complexe aminoacyl-ARNt à son site de fixation ^[103]. Ce sont des molécules très simples ayant un spectre d'action très large mais pour les quelles les résistances sont nombreuses et les effets secondaires importants, car elles inhibent la synthèse des protéines mitochondriales.

❖ *Les macrolides* sont obtenus soit à partir de bactéries, soit par hémisynthèse. Ces composés agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes par inhibition de la translocation c'est-à-dire que le complexe ARNt – acide aminé ne peut pas passer au niveau de deux sites voisins. Ainsi, en se fixant à la sous-unité 50S ils empêchent l'élongation de la chaîne peptidique ^[104,105]. Ces antibiotiques sont capables de diffuser dans les tissus et sont surtout utilisés dans le cas des infections pulmonaires.

III.1.3.C-Action sur la synthèse de l'ADN et de ses précurseurs :

La figure suivante présente l'action des antibiotiques sur la synthèse de l'ADN et de ses précurseurs.

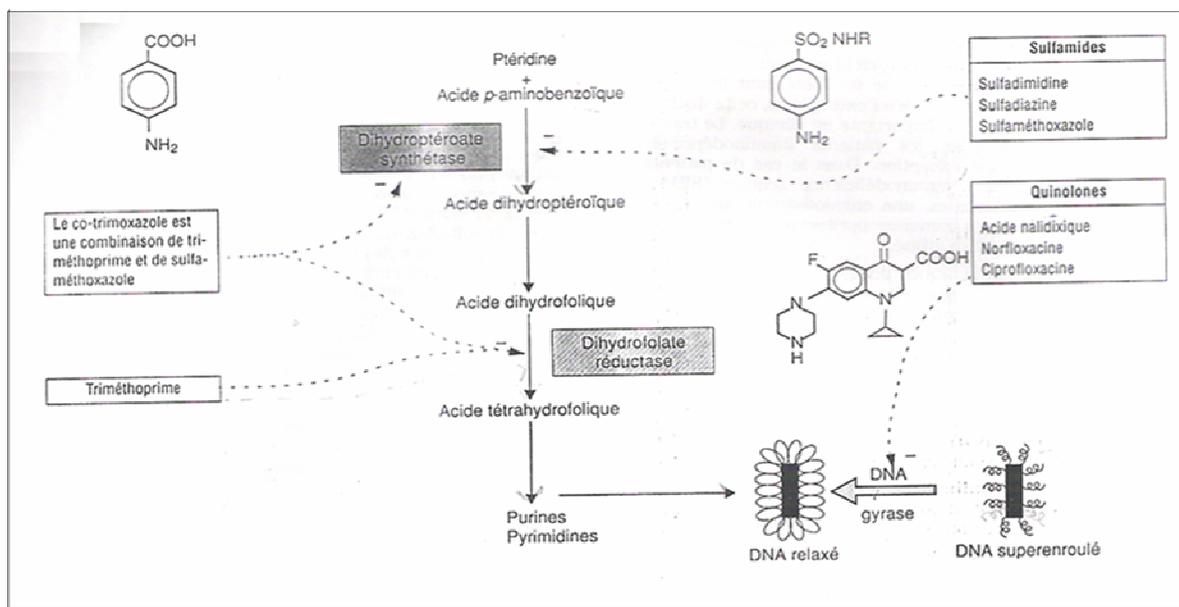


Fig.III.5 :L'action d'un antibiotique sur la synthèse de l'ADN [107].

❖ **Les sulfamides** furent les premiers médicaments qui ont montré une efficacité dans le traitement des infections systémiques. Ces substances de synthèse sont appelées anti-métabolites ou analogues structuraux car elles agissent par inhibition compétitive du dihydroptéroate synthétase (métabolite normal de la cellule). Les sulfamides inhibent la synthèse de l'acide tétrahydrofolique, cofacteur de la synthèse ultérieure des bases puriques et pyrimidiques. En présence de sulfamides, les bactéries s'appauvrissent en acide tétrahydrofolique et cessent de produire des bases azotées ou des acides aminés tels que la méthionine et la sérine [106].

❖ **Le triméthoprime** agit au niveau de la même voie métabolique que les sulfamides, mais constitue un inhibiteur de la dihydrofolate réductase. Son affinité pour l'enzyme bactérien étant 50000 fois plus élevée que son affinité pour l'enzyme humaine. Ces enzymes transforment l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique, étape aboutissant à la synthèse des purines.

❖ **Quinolones** comprenant l'**acide nadilixique** sont des antibactériens de synthèse chimique, les quinolones inhibent l'ADN gyrase, une enzyme qui modifie la configuration topologique des molécules d'ADN, l'inhibition de l'ADN gyrase empêche la relaxation de l'hélice d'ADN superenroulée dans le sens positif, et finalement entraîne la mort cellulaire^[107,108].

III.2- Résistance bactérienne aux antibiotiques :

III.2.1- Historique et définition :

L'utilisation massive des antibiotiques en médecine depuis plus de 60 ans et comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale ^[109,110] sont les causes principales de l'apparition et de la multiplication de souches bactériennes résistantes, un phénomène initialement décrit par A. Fleming et ses collaborateurs dès 1945 ^[111]. Toutefois, depuis les débuts de l'antibiothérapie on a vu s'accroître le nombre de bactéries devenues résistantes à un antibiotique, c'est-à-dire capables de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe normalement les souches de cette même espèce ^[112].

Ensuite, chaque fois qu'a été mis au point un nouvel antibiotique (voir Tableau III.1), les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite. La compréhension de ces mécanismes est aujourd'hui une priorité afin d'éviter un basculement vers une situation médicale similaire à celle de la période antérieure à la découverte des antibiotiques.

Tableau.III.1 : Introduction de certains antibiotiques et découverte de l'apparition de leur résistance ^[112].

<i>antibiotique</i>	<i>Années</i>	
	<i>Mise sur le marché</i>	<i>Résistances acquises</i>
<i>pénicilline</i>	1943	1945
<i>streptomycine</i>	1947	1947
<i>tétracycline</i>	1952	1956
<i>méthiciline</i>	1960	1961
<i>Acide nalidixique</i>	1964	1966
<i>gentamicine</i>	1967	1969
<i>vancomycine</i>	1972	1987
<i>céfotaxime</i>	1981	1981-1983
<i>linézolide</i>	1999	2000
<i>daptomycine</i>	1991	2003

III.2.2-Support génétique de la résistance :

La résistance aux antibiotiques est due soit à la modification de l'information génétique "endogène " par mutation chromosomique, soit à l'acquisition de matériel génétique "exogène" tels que les plasmides et/ou les transposons ^[113].

III.2.2.A-Les mutations chromosomiques :

Il s'agit d'une mutation qui peut se produire en l'absence de l'antibiotique ^[114]. La mutation se produit au moment de la réplication du chromosome bactérien et elle représente un changement ou une altération d'un gène bactérien. Ces mutations chromosomiques peuvent modifier les cibles des antibiotiques comme les transpeptidases (PBPs), l'ADN gyrase, les

protéines ribosomales, l'ARN polymérase, ou encore les porines et peuvent entraîner une modification de certaines structures cellulaires, par exemple de la paroi pour les PBPs, ou de certaines fonctions, comme la perméabilité de la membrane externe ^[115,116].

III.2.2.B-L'acquisition de gènes de résistance :

Cette résistance est due à l'acquisition d'informations génétiques exogènes portées par des plasmides ou des transposons. Elle concerne la quasi-totalité des antibiotiques et correspond à la majorité des cas isolés en clinique. Cette résistance entraîne la synthèse par les bactéries réceptrices de ce matériel génétique de protéines nouvelles qui vont soit : modifier le système de transport de l'antibiotique (efflux), inactiver l'antibiotique (enzymes.), modifier la cible de l'antibiotique (PBPs.), ou encore substituer une cible insensible à une cible sensible (PBPs.)^[117].

III.2.3- Résistance naturelle – Résistance acquise:

La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut être naturelle ou acquise.

III.2.3.A-La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien. Elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique qui est une conséquence des différences existant entre les structures pariétales bactériennes, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique, ou encore à l'absence de la cible. Ainsi, plusieurs espèces du genre *Streptomyces* possèdent des gènes leur permettant d'échapper à l'action des antibiotiques qu'elles produisent naturellement. La résistance naturelle peut également être due à des particularités structurales. Ainsi, la présence d'une membrane naturelle de perméabilité sélective rend les bactéries à Gram négatif intrinsèquement résistantes à certains antibiotiques de poids moléculaire relativement élevé, comme les glycopeptides.

La résistance naturelle a comme support génétique le chromosome bactérien et les mécanismes impliqués sont le plus souvent un défaut de pénétration ou l'inactivation par des systèmes enzymatiques bactériens.

III.2.3.B-Résistance acquise :

Le terme de résistance acquise est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce naturellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Les résistances acquises sont déterminées par des modifications génétiques ayant pour origine une mutation chromosomique ou l'acquisition de nouveaux gènes par transfert horizontal [118-120].

III.2.4- Mécanismes de résistance :

Bien que plusieurs mécanismes soient souvent impliqués simultanément dans la résistance aux antibiotiques, il est très nécessaire de les classer en trois catégories : défaut de pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, inactivation ou excrétion de l'antibiotique par des systèmes enzymatiques bactériens et défaut d'affinité entre la cible bactérienne et l'antibiotique comme montre la Fig III.6 [121].

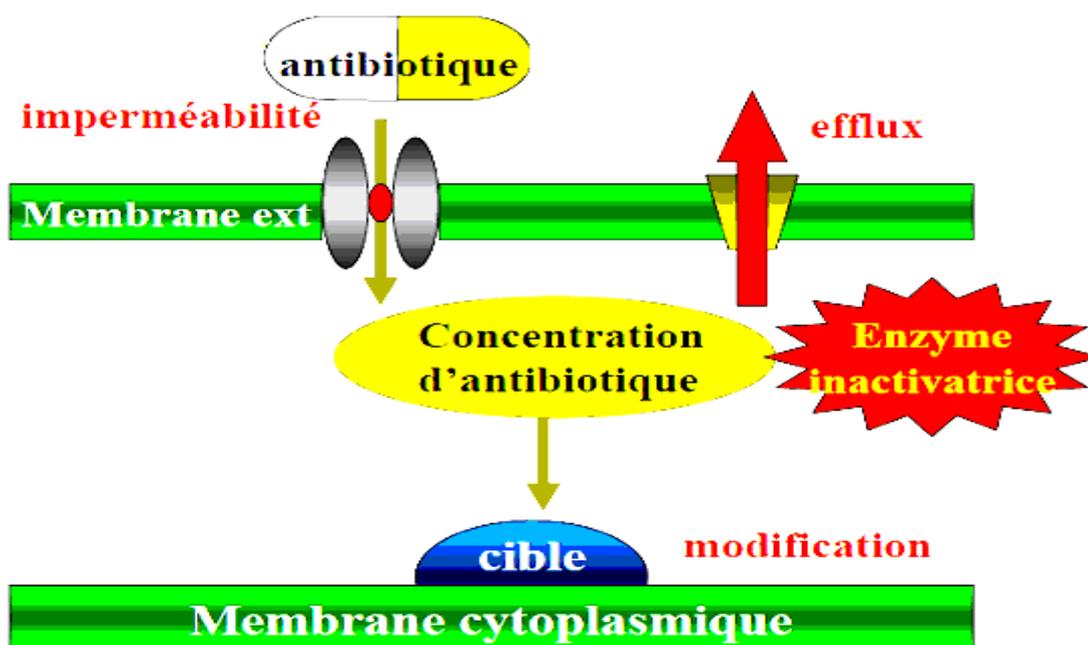


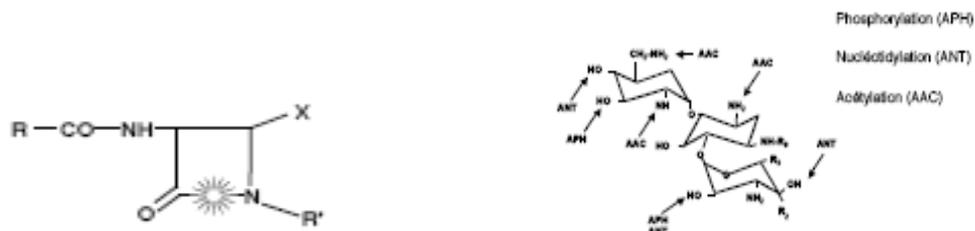
Fig.III.6 : Mécanismes de résistance [121].

Ces trois catégories de mécanismes sont les images en miroir des trois facteurs qui régissent l'activité d'un antibiotique : vitesse de diffusion à travers les obstacles (parois, membrane cytoplasmique) qui séparent l'antibiotique de sa cible bactérienne, capacité de l'accumuler au voisinage et degré d'affinité de la cible pour antibiotique, qui est en général un système enzymatique essentiel à la vie bactérienne [122].

III.2.4.1- L'inactivation enzymatique :

De nombreuses enzymes sont connues pour inactiver les antibiotiques. Certaines détruisent directement la molécule antibiotique, ce sont principalement les β -lactamases, hydrolases et estérases. D'autres enzymes se contentent d'inactiver les antibiotiques en ajoutant sur la molécule des groupements acétyl, adényl ou phosphorique.

Le spectre d'activité de ces enzymes est généralement limité à quelques molécules ou une famille d'antibiotiques comme montre la figure suivante^[123,124].



Hydrolyse du cycle β -lactame
par une β -lactamase

sites d'action des enzymes modifiant
les aminosides.

Fig.III.7 : Exemple d'inactivation enzymatique.

III.2.4.2-La diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique :

Bien que l'absence de perméabilité soit un phénomène de résistance naturelle chez certaines espèces, d'autres peuvent acquérir cette imperméabilité suite à une mutation ou à l'acquisition de plasmides comme montre la figure suivante.

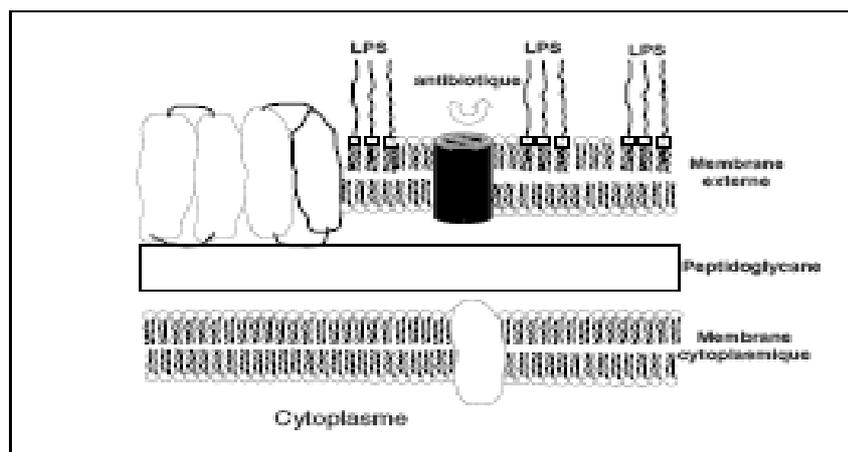


Fig.III.8 : La diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique^[125].

La couche externe de la paroi des bactéries à gram négatif est formée de lipopolysaccharides dont la structure est très compacte et hydrophile en surface grâce à ses

acides gras saturés et à ses charges électriques négatives se fixer des cation (Ca^{++} , Mg^{++}). C'est pourquoi ces bactéries sont généralement résistants aux antibiotique hydrophobes et /ou de masse moléculaire élevée (pénicillines G et M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, vancomycine) ^[114].

Une modification de structure des porines ou plus simplement une diminution du nombre de porines sur la membrane externe va permettre à certaines bactéries d'acquérir une résistance à certains antibiotiques ^[126].

III.2.4.3-Excrétion de l'antibiotique par mécanisme d'efflux :

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle, sous l'effet de mutation, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple fluoroquinolones et β -lactamines) le phénomène été décrit surtout chez le gram négatif.

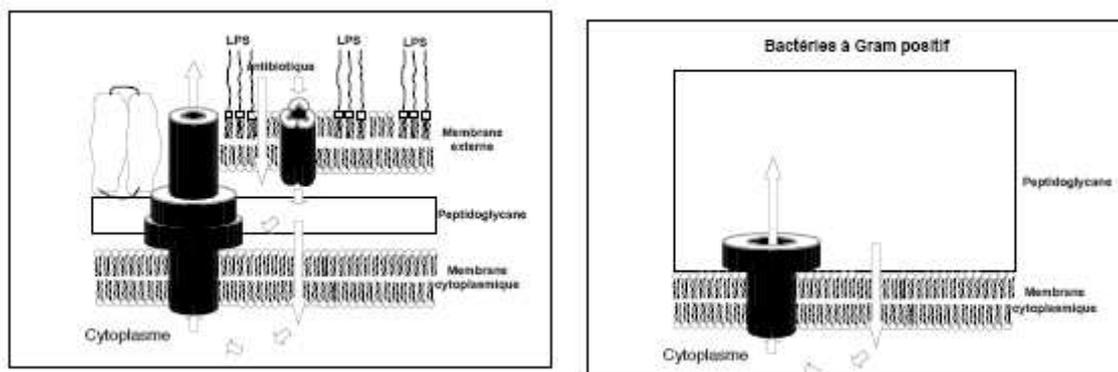


Fig.II.9 : Excrétion de l'antibiotique par mécanisme d'efflux ^[126].

Le premier exemple identifié de résistance acquise par efflux transmembranaire est celui de la résistance aux cyclines ^[127], liée aux protéines T et qui exportent ces antibiotiques par efflux transmembranaires en utilisant une force générée par les protons, pour être transférable sur des plasmides. A ce jour, un nombreux système similaire ont été identifiés chez les bactéries et reconnus responsable de résistance à des antibiotiques très variés comme les fluoroquinolone ^[128].

III.2.4.4-Résistance par défaut d'affinité entre la cible bactérienne et l'antibiotique :

La résistance par défaut d'affinité entre la cible bactérienne et l'antibiotique est représentée par la figure ci dessous.

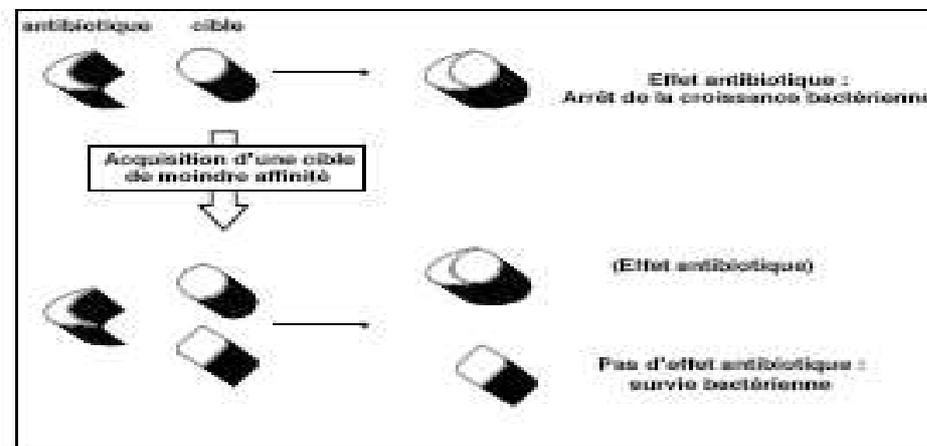


Fig.III.10: Résistance par défaut d'affinité entre la cible bactérienne et l'antibiotique^[129].

Les mycoplasmes, qui sont des bactéries dépourvues de peptidoglycane dont la synthèse est assurée par des enzymes appelées « protéines liant la pénicilline »(ou PLP) et qui sont les cible des β -lactamines, sont donc naturellement résistants à ces antibiotiques. Chez certaines autres espèces, les PLP ont une mauvaise affinité naturelle pour certains β -lactamines^[129]. Les mécanismes de résistance acquise par modification de la cible pour l'antibiotique sont le plus souvent la conséquence de mutation dans l'ADN gyrase, l'ARN polymérase, dihydroptéroate synthétase et la dihydrofolate réductase^[130-132].

III-3 : Evaluation des propriétés antibactériennes des composés préparés :

Dans le cadre de la coopération engagée entre le laboratoire LMPMP et celui de microbiologie de l'université de Sétif et afin de déterminer d'éventuels effets des dérivés quinazoliniques et quinoxaliniques sur l'activité antibactérienne chez diverses souches, nos produits ont été testés sur des bactéries sensibles à un antibiotique de la classe des β -lactamines à savoir l'ampicilline.

III.3.1- Matériel :

III.3.1.A- Souches bactériennes utilisées :

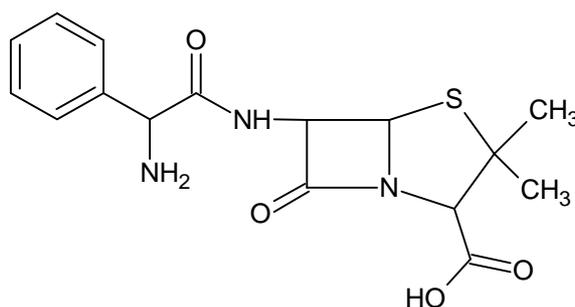
Le support microbien utilisé est composé des souches bactériennes d'origine américaine:

- ❖ *Escherichia coli* ATCC
- ❖ *Bacillus* ATCC
- ❖ *Salmonella* ATCC
- ❖ *Staphylococcus* ATCC
- ❖ *Entrobacter* ATCC

III.3.1.B-Antibiotique utilisé :

- **Ampicilline** : fournisseur (Aldrich).

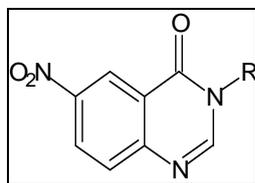
Structure chimique



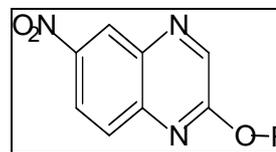
III.3.1.C -Les molécules testées :

Les molécules étudiées sont présentées dans le tableau III.2.

Tableau .III.2: Liste des composés testés pour leur pouvoir antibactérien.



<i>Composés</i>	<i>R</i>
<i>1a</i>	H
<i>2a</i>	CH_3
<i>3a</i>	CH_2CH_3
<i>4a</i>	$CH_2CH_2N(CH_3)_2$
<i>5a</i>	$CH_2CH_2N(CH_2CH_3)_2$
<i>6a</i>	
<i>7a</i>	



<i>Composés</i>	<i>R</i>
<i>1b</i>	H
<i>2b</i>	CH_3
<i>3b</i>	CH_2CH_3
<i>4b</i>	CH_2CH_3

III.3.2- Méthodes d'étude sur milieu solide :

Cette technique est utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale^[133]. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé d'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée du produit à tester (Figure III.11).

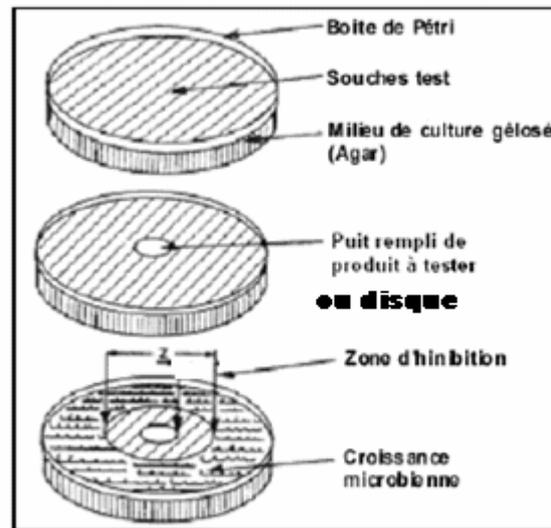


Fig.III.11 : Illustration de la méthode de diffusion sur boîte de Pétri.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégné des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque produit diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante.

Une variation de cette technique a été rapportée par Tharib et coll, elle consiste en l'aménagement de cavités dans la gélose dans lesquelles sont versés les produits à tester.

Cette méthode est utilisée par certains auteurs Deans et Ritchie, Lis-Balchin et coll,

Burt et Reinders, Faleiro et coll, Kunle et coll ^[134,135].

Cette technique permet une bonne estimation du pouvoir antimicrobien, surtout pour les produits ayant une bonne diffusion dans le milieu solide.

III.3.2.a-Cultures bactériennes :

Les études d'inhibition de croissance bactérienne ont été faites sur différentes souches bactériennes. Les cultures ont été faites dans un milieu BHI (Brain Heart Infusion), en aérobiose, à 37°C pendant 18 à 24 heures.

III.3.2.b-Préparation de la gamme de concentration de la substance :

20 mg de chaque composé à étudier ont été dissous dans 1000 µl diméthylsulfoxyde (DMSO). Cette première dilution constitue la solution mère.

III.3.2.c-Méthode des disques en milieu solide :

C'est une méthode qui consiste à déposer à la surface d'une gélose spécifique (Muller Hinton) coulée en boîte de pétri uniformémentensemencée d'une suspension de 100ml de la bactérie étudiée. Des disques de papier filtre de diamètre 6 mm sont imprégnés avec 50µl d'une solution à une concentration de 2mg/ml des produits à tester. Dans les mêmes conditions, l'antibiotique (ampicilline) qui constitue le témoin a été testé à une quantité de 10 µg/disque. Les boîtes de pétri sont mises au réfrigérateur pendant 30 min pour assurer une bonne diffusion.

Dès l'application des disques, les produits diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

III.3.2.d- Méthode de diffusion en puits :

La méthode consistait à déposer sur une couche basale du milieu gélose spécifique (Muller Hinton) coulée en boîte de pétri, un volume de 10ml du même milieu contenant une culture fraîche de 1ml de la bactérie. Après solidification, A l'aide d'un tube stérile de 6 mm de diamètre, on aménage des cavités (puits) dans la deuxième couche de gélose, puis à l'intérieur de chaque puits on verse 50 µl du produit à tester, à une concentration de 2mg/ml

Les boîtes de pétri sont mises au réfrigérateur pendant 30 min pour assurer une bonne diffusion. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, les composés diffusant radialement créaient une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec une suspension bactérienne.

III.3.3-Résultats et discussion des Tests Biologiques :

Les résultats de l'activité antibactérienne des produits sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau.III.3 : Résultats des tests biologiques : activité antibactérienne.

Composés	<i>Zone d'inhibition à une concentration de 20mg /ml (mm)</i>				
	<i>Bacillus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Entrobacter</i>
1a	10 mm	-	-	-	-
2a	-	-	-	-	-
3a	-	-	-	15mm	-
4a	15 mm	14 mm	-	16mm	-
5a		-	-	18mm	-
6a	11 mm	-	-	18mm	-
7a	-	-	-	11mm	-
1b	-	-	-	-	-
2b	10 mm	-	12mm	14mm	-
3b	-	-	-	-	-
4b	-	-	-	-	-
Ampicilline	28mm	20mm	25mm	38mm	31mm
DMSO	-	-	-	-	-

Avec :

- : Composé non actif.

En milieu solide, l'action antibactérienne des produits testés se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits ou des disques. Le diamètre de ces derniers diffère d'une bactérie à une autre et va de 10 mm à 18 mm.

Les dérivés quinazoliniques et quinoxaliniques ont des diamètres d'inhibition peu convenable devant celui de l'ampicilline. Ces produits ne présentent donc pas une activité antibactérienne notable, ce qui réduit le risque d'induire, à plus au moins long terme, une résistance éventuelle chez les souches étudiées.

A l'exception des composés **3a**, **4a**, **5a**, **6a** et **2b** qui se révèlent plus actifs vis-à-vis des souches *E. coli*, *Bacillus* et surtout *vis-à-vis de la souche staphylocoques*. Ils seront donc sélectionnés pour l'étude de l'activité antibactérienne en milieu liquide.

En se basant sur le mécanisme d'action de l'ampicilline ^[136] où la liaison amide et plus particulièrement, le carbonyle est engagée dans une liaison hydrogène avec les protéines liant les pénicillines, on peut donc suggérer que les composés quinazoliniques dont la liaison amide est présente peuvent agir avec un site accepteur fixant la chaîne acyle aminée.

On peut même postuler un mécanisme moléculaire de l'action enzymatique sur le même site des composés quinazoliniques où le OH de la sérine attaque de manière nucléophile le carbonyle de la pyrimidinone provoquant son ouverture. Ceci étant possible par la fixation du proton de la sérine sur un azote de l'histidine aidée par la proximité de l'aspartate ^[136].

Du point de vue stérique, nous nous attendions que la molécule dont le substituant présente un cycle de pipéridine ait une activité inférieure à celles substituées par des chaînes linéaires, or au contraire l'activité la plus signifiante est celle observée pour le composé **6a** dont le diamètre d'inhibition dans la souche de *staphylocoque* est semblable à celui du composé **5a**. Ce dernier ayant une chaîne latérale de diéthylaminoéthyle, est relativement volumineux par rapport au composé **4a** et **3a**.

Il apparaît clairement d'après ces résultats que la taille du substituant pourrait jouer un rôle dans l'activité. Toutefois, rien ne permet de l'affirmer puisque le remplacement isostérique par le cycle de morpholine en bout de chaîne (composé 7a) diminue l'activité (diamètre d'inhibition de 11 mm)

En comparant l'activité antibactérienne des composés **3a** et **4b** vis-à-vis des souches *E. coli*, *Bacillus*, *Salmonella* et *Entrobacter* où le remplacement isostérique consiste à modifier le support et non la chaîne latérale (modification de la quinazolinone en

quinoxalinone respectivement) on remarque que la position des azotes ne confère aucune activité d'une molécule par rapport l'autre. Une étude plus poussée doit être menée pour confirmer ces résultats.

Par ailleurs, dans la série quinoxalinique une relation structure activité ne peut être établie en raison de l'étroitesse de la gamme étudiée, cependant on note une certaine inhibition de la croissance bactérienne causée par le composé **2b** vis-à-vis des souches *Bacillus*, *Salmonella* et *Staphylococcus*.

Devant ces résultats et, en particulier, l'intérêt potentiel présenté par les composés **3a**, **4a**, **5a**, **6a** et **2b** en raison de leurs activités, on peut les considérer comme têtes de série intéressantes dans une étude de l'activité antibactérienne à milieu liquide afin de connaître leur comportement sur des souches résistantes.

CONCLUSION

CONCLUSION

Ce travail présente un double objectif :

- Chimique : Développement de nouvelles voies de fonctionnalisation d'hétérocycles azotés par des réactions chimiques aussi diverses et variées telle que la substitution nucléophile (alkylation), et la substitution aromatique électrophile (nitration).
- Biologique : Découverte de nouvelles molécules à potentiel antibactérien in vitro.

Lors de ce travail, nous nous sommes intéressés à deux classes d'hétérocycles; la quinazolin-4-ol et la quinoxalin-2-ol. L'intérêt de ce choix réside dans la connaissance de leur réactivité chimique, ainsi que dans la préparation d'une gamme de composés aussi large que possible afin d'établir une relation structure-activité et de disposer d'un chef de file pouvant servir à des tests in vivo.

Nous avons donc synthétisé une famille de dérivés (11 composés), possédant des substituants variés (groupement nitro, groupement alkyl) et testé leurs propriétés biologiques.

Pour cela, nous avons dans un premier temps fonctionnalisé le noyau de la quinazolin-4-ol selon une méthodologie simple et efficace à partir de la nitration par l'acide nitrique en présence d'acide sulfurique à 0 °C. Cette synthèse permet d'obtenir rapidement (4-5 h) et avec un rendement relativement élevé (60%) le dérivé souhaité; avec une sélectivité de la nitration vers la position 6.

Cette réaction a permis d'orienter la réaction d'alkylation selon la méthode classique (K_2CO_3 /DMF) vers un seul hétéroatome (azote en position 3). Les produits sont obtenus avec de bons rendements et sont qualitativement très purs d'après les résultats d'analyse en RMN.

Dans un deuxième temps et selon les mêmes protocoles déjà utilisés, nous avons pensé à substituer le deuxième hétérocycle (la quinoxalin-2-ol) et au cours de nos synthèses, un manque de réactivité de cette dernière vis-à-vis des réactions de substitutions a été mis en évidence. Nous étions donc confrontés parfois à un problème de mélange (compétition entre les O et N alkylation), constat de l'existence dans ce cas de l'équilibre tautomère. Aussi, les rendements pour obtenir les 6-nitroquinoxalin-2-alkylées étaient faibles.

En effet, avec le bromure d'éthyl, l'alkylation de la 6-nitroquinoxalin-2-ol conduit à un mélange constitué de 50% de dérivé O-R et 50% de N-R avec des rendements de 30%.

En revanche, avec l'iodure de méthyle, nous n'avons obtenu que le dérivé O-R avec un rendement de 77 %. Cela pourrait aussi impliquer la réactivité spécifique des halogénures d'alkyles ayant des hétéroatomes de nature différente (Cl, I, Br).

Les produits obtenus sont identifiés et analysés par CCM, et par les méthodes spectroscopiques : UV-Vis, FTIR et RMN de ^1H et C^{13} .

Suite à l'ensemble de ces réactions de synthèse organique, nous avons affiné notre recherche par une évaluation biologique in vitro de tous les composés préparés.

L'étude antibactérienne menée sur ces dérivés quinazoliniques et quinoxaliniques a montré qu'ils n'ont pas d'effets significatifs sur la croissance bactérienne en comparaison avec l'antibiotique de référence choisi (ampicilline), à l'exception des composés **3a**, **4a**, **5a**, **6a** et **2b** qui s'avèrent plus ou moins actifs d'après les valeurs des diamètres d'inhibition mesurés selon la méthode des disques et des puits.

Toutefois, des recherches dans ce domaine doivent être poursuivies, en ramenant un grand nombre de variations aux hétérocycles choisis et en envisageant des tests antibactériens plus poussés (méthode de fluorescence, accumulation radioactive) pour mieux comprendre les mécanismes biologiques qui sont impliqués dans les phénomènes bactériostatique ou bactéricide.

Néanmoins, même si ces molécules avaient un grand pouvoir antibactérien, leur application en thérapeutique est contraignante puisque leur utilisation chez l'homme dépend en grande partie de leur cytotoxicité et de leur activité antibactérienne propre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]:F. Qadri, A.M. Svennerholm, A.S.G. Faruque, R.B. Sack; Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention. Clin.Microbiol.Rev. 18 (2005) 465-483.
- [2]:R.A. Devasia, T.F. Jones, J. Ward, L. Stafford, H. Hardin, C. Bopp, M. Beatty, E. Mintz, W. Schaffner; Endemically acquired foodborne outbreak of enterotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O169:H41. Am.J.Med. 119 (2006) 168.
- [3]:P Zhichkin, E Kesicki, J.Treiberg, L Bourdon, M Ronsheim, H. C.Ooi, S. T.White, A.Judkins, D. Fairfax ; A Novel Highly Stereoselective Synthesis of 2,3-Disubstituted 3H-Quinazoline-4-one Derivatives. Org.Lett. 9 (2007) 1415.
- [4]:J. P. Michael; Indolizidine and quinolizidine alkaloids. Nat. Prod. Rep. 19 (2002) 742.
- [5]:V. Alagarsamy, V. R.Solomonb, K. Dhanabala; Synthesis and pharmacological evaluation of some 3-phenyl-2-substituted-3H-quinazolin-4-one as analgesic, anti-inflammatory agents. J.Bioorg.Med.Chem. 15 (2007) 235–241.
- [6]:V. Alagarsamy, V. R. Solomonb, M. Muruganc; Synthesis and pharmacological investigation of novel 4-benzyl-1-substituted-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5-onesas new class of H1-antihistaminic. J.Bioorg.Med.Chem. 15 (2007) 4009–4015.
- [7]:P. M.Chandrika, T. Yakaiah , A. Raghu Ram Rao, B. Narsaiah , N. C.Reddy, V. Sridhar, J. V. Rao; Synthesis of novel 4,6-disubstituted quinazoline derivatives, their anti-inflammatory and anti-cancer activity (cytotoxic) against U937 leukemia cell lines. J.Bioorg.Med.Chem. 43 (2008) 846-852.

- [8]:V.Alagarsamya, U.S. Pathak; Synthesis and antihypertensive activity of novel 3-benzyl-2-substituted-3H-[1,2,4]triazolo[5,1-b]quinazolin-9-ones. *J.Bioorg.Med.Chem.* 15 (2007) 3457–3462
- [9]:V. Alagarsamya, U. S. Pathak; Synthesis and antihypertensive activity of novel 3-benzyl-2-substituted-3H-[1,2,4]triazolo[5,1-b]quinazolin-9-ones. *J.Bioorg.Med.Chem.* 15 (2007) 4009–4015.
- [10]: S. H. Havale, M.Pal; Medicinal chemistry approaches to the inhibition of dipeptidyl peptidase-4 for the treatment of type 2 diabetes. *J.Bioorg.Med.Chem.* 17 (2009) 1783–1802
- [11]:S.Sebastian, J. Settleman, S.J. Reshkin , A.Azzariti, A.Bellizzi, A.Paradiso; The complexity of targeting EGFR signalling in cancer: From expression to turnover. *J.Biochim.Biophys.Acta.* 1766 (2006) 120–139.
- [12]: P. M.Chandrika, T. Yakaiah, A. R.Ram Rao, B. Narsaiah, N. C.Reddy, V. Sridhar, J. V.Rao; Synthesis of novel 4,6-disubstituted quinazoline derivatives, their anti-inflammatory and anti-cancer activity (cytotoxic) against U937 leukaemia cell lines. *J. Med.Chem.* 43 (2008).
- [13]:K.L.Chang, H.L. Cheng, L. W. Huang, B.S.Hsieh, Y.C.Hu, T.T.Chih, H.W.Shyu, S.J.Su; Combined effects of terazosin and genistein a metastatic hormone-independent human prostate cancer cell line. *Cancer Lett.* 276 (2009)14-20.
- [14]: A.E. Wakeling, S.P. Guy, J.R. Woodburn, S.E. Ashton, B.J. Curry, A.J. Barker, K.H. Gibson; ZD1839 (Iressa): An orally active inhibitor of epidermal growth factor signaling with potential for cancer therapy. *Cancer Res.* 62 (2002) 5749-5754.
- [15]:P. M.Chandrika, T. Yakaiah, A. R.R.Rao, B. Narsaiah, N. C.Reddy, V. Sridhar, J.V.Rao; Synthesis of novel 4,6-disubstituted quinazoline derivatives, their anti-inflammatory and anti-cancer activity (cytotoxic) against U937 leukaemia cell lines. *J.Med.Chem.* 43 (2008) 846-852.
- [16]:L.Zhang, L. Ren, M.Bai, L.Weng, J.Huang, L.Wu, M.Deng, X.Zhou; Synthesis and biological activities of quinazoline derivatives with ortho-phenol-quaternary ammonium salt groups. *J.Bioorg.Med.Chem.* 15 (2007) 6920–6926.

[17]:B. Baruah, K. Dasu, B.Vaitilingam, P.Mamnoor, P. P.Venkata, S.Rajagopal, K. R. Yeleswarapu; Synthesis and cytotoxic activity of novel quinazolino- β -carboline-5- one derivatives. *Bioorg.Med.Chem.* 12 (2004) 1991–1994.

[18]:K. M. Depew, S. P.Marsden, D.Zatorska, A.Zatorski, W. G.Bornmann, S. J. Danishefsky; Total Synthesis of 5-*N*-Acetylardeemin and Amauromine: Practical Routes to Potential MDR Reversal Agents. *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 11953–11963.

[19]:J. H Chan, J. S.Hong, L. F.Kuyper, M. L.Jones, D. P.Baccanari, R. L. Tansik, C. M Boytos, S. K.Rudolph, A. D Brown; Synthesis of 1,3-diamino-7,8,9,10-tetrahydropyrido[3,2-*f*]-quinazolines. Inhibitors of *Candida albicans* dihydrofolate reductase as potential antifungal agents. *J.Heterocycl.Chem.* 34 (1997) 145– 151.

[20]:R. O.Dempcy, E. B. Skibo; Rational design of quinazoline-based irreversible inhibitors of human erythrocyte purine nucleoside phosphorylase. *J.Biochem.*30 (1991) 8480–8487.

[21]:B.S.Joshi, Y. Bal, M. S. Pual, K. K. Dubose , S.W. Pelletier; ^1H and ^{13}C NMR assignments for some pyrrolo{2,1b-quinazoline alkaloids of *Adhatoda vasica*. *J.Nat.Pndutens.* 57 (2004) 953-962.

[22]:D. J. Connolly, D.Cusack, T. P. O’Sullivan, P. J. Guiry; Synthesis of quinazolinones and quinazolines. *Tetrahedron.* 61 (2005)10168 -10184.

[23]:L.Qian, Y.Shen, J. Chen, K. Zheng; 3D-QSAR Study on a Series of Indolo[1,2-b]quinazoline Derivatives with Anticancer Activity and their Molecular Design. *Acta.Physico-Chimica.Sinica.* 22 (2006)1372-1372

[24]:V.M. Sharma, P. Prasanna, K. V. Adi Seshu, B. Renuka, C. V. Laxman Rao, G. S. Kumar, C. P.Narasimhulu, P. A.Babu, R. C. Puranik; Novel indolo[2,1-b] quinazoline analogues as cytostatic agent: biological evaluation and tructure-activity relation ship. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.*12 (2002) 2303-2307.

[25]:N.Kyprianou, J. P .Litvak, A.Borkowski, R.Alexander, S. C. Jacobs; Induction of prostate apoptosis by doxazosin in benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* 159 (1998) 1810

[26]:J. K.Chon, A.Borkowski, A. W.Partin, J. T.Isaacs, S. C. Jacobs, N.Kyprianou; Alpha 1-adrenoceptor antagonists terazosin and doxazosin induce prostate apoptosis without affecting cell proliferation in patients with benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* 161 (1999) 2002.

[27]:N.Kyprianou; Doxazosin and terazosin suppress prostate growth by inducing apoptosis: clinical significance. *J. Urol.* 169 (2003)1520-1525.

[28]:K. Keledjan , N.Kyprianou; Anoikis induction by quinazoline based α -adrenoceptor antagonists in prostate cancer cells: antagonistic effect of bcl-2. *J. Urolo.* 169 (2003) 1150-1156.

[29]:M. Fukuoka, S. Yano, G. Giaccone, T. Tamura, K. Nakagawa, J.Y. Douillard, Y. Nishiwaki, J. Vansteenkiste, S. Kudoh, D. Rischin, R.Eek; Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin.Oncol.* 21 (2003) 2237–2246.

[30]:M.G. Kris, R.B. Natale, R.S. Herbst, T.J. Lynch Jr., D. Prager, C.P.Belani, J.H. Schiller, K. Kelly, H. Spiridonidis, A. Sandler, K.S. Albain;Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial, *JAMA.* 290 (2003) 2149–2158.

[31]:R.Berardi, L.Verdecchia, M. P.Paolo, R.Giampieri; M.Scartozzi, C.Pierantoni, M.Bianconi, P.Mazzanti; Clinical and molecular profiling as a determinate for treatment decisions, *Critical.Rev.Oncology.Hematology.* 69 (2009) 223–236.

[32]:L.Seymour; Epidermal growth factor receptor inhibitors: an update, on their development as cancer therapeutics. *Curr.Opin.Investig.Drugs.* 4 (6) (2003) 658-66.

[33]:K.M. Foote, A.A. Mortlock, N.M. Heron, F. H. Jung, G.B. Hill, G.Pasquet, M.C. Brady, S.Green, S.P. Heaton, S.Kearney, N. J. Keen, R.Oedra, S.R. Wedgea; Synthesis and SAR of 1-acetanilide aminopyrazolesubstituted quinazolines: Selective inhibitors of Aurora B kinase with potent anti-tumor activity. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 14 (2008) 140-160.

[34]:Z .Lin, H.Hsu, C. Hsu, P.Y.Yeh, C.Y.F. Huang, Y.F.Huang, T.J.Chen, S.H.Kuo, C.Hsu , F.C.Hu; The Aurora kinase inhibitor VE-465 has anticancer effects in pre-clinical studies of human hepatocellular carcinoma. *J. Hepatology.* 50 (2009) 518–527.

- [35]:A .W. Schuttelkop, L.W. Hardy, S. M. Beverley ,W.N. Hunter; Structures of Leishmania major Pteridine Reductase Complexes Reveal the Active Site Features Important for Ligand Binding and to Guide Inhibitor Design. J. Mol. Biol. 352 (2005) 105–116.
- [36]:D.Kikelh; Product of 1-3: quinazolines, Science of synthesis. 16 (2004) 573.
- [37]:V .Jatav , P.Mishra , S.Kashaw , J.P. Stables; Synthesis and CNS depressant activity of some novel 3-[5-substituted 1,3,4-thiadiazole-2-yl]-2-styryl quinazoline-4(3H)-ones. J. Med.Chem. 43 (2008) 135-141.
- [38]:R.P.Miller, JR. Woodworth, D.A Graves; Comparison of three formulations of metolazone: Bioavailability and pharmacologic effects. Curr.Ther.Res. 43 (6) (1988)1133-1142.
- [39]:B.V.Shetty, L.A .Campanella, T.L .Thomas; Synthesis and activity of some 3-aryl-and 3-aralkyl-1,2,3,4-tetrahydro-4-oxo-6-quinazolinesulfonamides. J.Med.Chem. 13 (1970) 886-895.
- [40]:K.Undheim, T.Bennech; In Comprehensive Heterocyclic Chemistry II; Pergamon: Oxford.6 (1998).
- [41]:H.Urabe, F.Sato, D.Suzuki, R.Tanaka; Selective Syntheses of Metalated Pyridines from Two Different Unsymmetrical Acetylenes, a Nitrile, and a Titanium (II) Alkoxide. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 3518–3519,
- [42]:C. Bjorn, G. Soderberg; Transition metals in organic synthesis: Highlights for the year 2004. Coordination Chemistry Reviews. 250 (2006) 2411–2490.
- [43]:M. Baitiche; Synthèse de nouveaux dérivés quinazoliques et 7-chloroquinoléiniques. Etude de leur activité inhibitrice de l'efflux chez *Enterobacter aerogenes*. Thèse de doctorat d'état en cotutelle. Université de la Méditerranée-Faculté de pharmacie de Marseille/ UFAS. Laboratoire LMPMP. (2007).
- [44]:Rad-Moghadam, K. Mohseni; An expeditious and solvent-free route to the synthesis of 2-substituted quinazolin-4(3H)-ones under microwave conditions. M. J. Chem. Res. (S) 12 (2003) 487.

- [45]:R. J. Abdel-Jalil, W.Volter, M. Saeed; A novel method for the synthesis of 4(3*H*)-quinazolinones. *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 3475–3476.
- [46]:C.Sundberg; *Chimie organique avancée*, tome II, 3 édition, édition de boeck France. (1996).
- [47]: R.Milcent, F.Chau; *Chimie organique hétérocyclique*, 1^{ère}édition, maison EDP sciences. (2003) 628-623.
- [48]:N.Sato, A.R. Katritzky, C.W. Rees, E.F.V. Scriven (Eds.), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Pergamon, Oxford. 6 (1996) 233.
- [49]:S.S.Nikam, J. J.Cordon, D. F.Ortwine, T. H.Heimbach, A. C.Blackburn, M. G.Vartanian, C. B.Nelson, R. D.Schwarz, P. A.Boxer, M. F. Rafferty; Design and synthesis of novel quinoxaline-2,3-dione AMPA/GlyN receptor antagonists: Amino acid derivatives. *J. Med.Chem.* 42 (1999) 2266-2271.
- [50]:Y.P.Auberson, S.Bischoff, R.Moretti, M.Schmutz, S. Veenstra; 5 Aminomethylquinoxaline-2, 3-diones. Part I: A novel class of AMPA receptor antagonists. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 8 (1998) 65-70.
- [51]:D.O'Brien, M.S.Weaver, D.G.Lidzey, D.D.C.Bradley ; Use of poly(phenyl quinoxaline) as an electron transport material in polymer light-emitting diodes. *Appl.Phys.Lett.* 69 (1996) 881-3.
- [52]:A.Carta, S.Piras, G.Loriga, G.Paglietti; Chemistry, biological properties and SAR analysis of quinoxalinones. *Mini.Rev.Med.Chem.* 6 (2006) 1179–200.
- [53]:C. Deleuze-Masquefa, G.Gerebtzoff, G.Subra, J.R.Fabreguettes, A.Ovens, M. Carraz, M.P.Strub, J.Bompard, P.George, P.A.Bonnet; Design and synthesis of novel imidazo[1,2-a]quinoxalines as PDE4 inhibitors. *J.Bioorg.Med.Chem.* 12 (2004) 1129–1139.
- [54]:S.A. Kotharkar, D.B. Shinde; Synthesis of antimicrobial 2,9,10-trisubstituted-6-oxo-7,12-dihydro-chromeno[3,4-b]quinoxalines. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 16 (2006) 6181–6184.

[55]:M. Loriga, M. Fiore, P. Sanna, G. Paglietti; Quinoxaline chemistry, Part 4 2-(*R*)-anilinoquinoxalines as non classical antifolate agents. Synthesis, structure elucidation and evaluation of in vitro anticancer activity, *Il Farmaco*. 50 (1995) 289–301.

[56]:A. R. Rees, C. W.Katritzky; In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*,Eds.; Pergamon: New York. 3 (1984) 157–197.

[57]:A.Burguete, E.Pontiki, D.Hadjipavlou-Litina, R.Villar; Synthesis and anti-inflammatory/antioxidant activities of some new ring substituted 3-phenyl-1-(1,4-di-*N*-oxide quinoxalin-2-yl)-2-propen-1-one derivatives and of their 4,5-dihydro-(1*H*)-pyrazole analogues. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett*. 17 (2007) 6439–6443.

[58]:Y.B.Kim, Y.H.Kim, J.Y.Park, S.K.Kim; Synthesis and biological activity of new quinoxaline antibiotics of echinomycin analogues. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett*. 14 (2004) 541-544.

[59]:K.Toshima, T.Kimura, R.Takano, T.Ozawa, A.Ariga, Y.Shima, K.Umezawa, S.Matsumura; Molecular design, chemical synthesis and biological evaluation of quinoxaline–carbohydrate hybrids as novel and selective photo-induced DNA cleaving and cytotoxic agents. *Tetrahedron*. 59 (2003) 7057–7066.

[60]:M. J.Waring, A. Makoff; Breakdown of Pulse-Labeled Ribonucleic Acid and Polysomes in *Bacillus megaterium*: Actions of Streptolydigin, Echinomycin, and Triostins. *Mol. Pharmacol*. 10 (1974) 214.

[61]:A.Cornish, K R Fox, M J Waring; Preparation and DNA-binding properties of substituted triostin antibiotics. *Antibiotics Ser*. 23 (1983) 221–231.

[62]:J. M. Brown; The Hypoxic Cell: A Target for Selective Cancer Therapy-Eighteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Res*. 59 (1999) 5863.

[63]:B.Ganley, G.Chowdhury, J.Bhansali, J. S.Daniels, K.S. Gates; Redox-activated, hypoxia-selective DNA cleavage by quinoxaline 1,4-di-*N*-oxide. *J.biora*. 9 (2001) 2395-2401

- [64]:B.Ganley, G.Chowdhury, J.Bhansali, J. S.Daniels, K.S. Gates; Redox-Activated, Hypoxia-Selective DNA Cleavage by Quinoxaline 1,4-di-N-Oxide. *J.Bioorg.Med.Chem.* 9 (2001) 2395–2401.
- [65]:H.K. Kim, L.F. Miller, R. E. Bambury, H.W. Ritter; Nitrones. 7. alpha.-Quinoxaliny-N-substituted nitrone 1,4-dioxides. *J. Med. Chem.* 20 (1977) 557–560.
- [66]:T.Nunoshiba, H.Nishioka; Genotoxicity of quinoxaline 1,4-dioxide derivatives in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 217 (1989) 203.
- [67]:A.R.English, C.M. Dunegan; Quinoxaline-1,4-di-N-oxides. I. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in *Escherichia coli* by 2,3-dihydromethylquinoxaline-1,4-di-N-oxide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 133 (1970) 398-400.
- [68]:W.Suter, A. Rosselet, F. Knusel; Mode of action of quinoxin and substituted quinoxaline-di-Noxides on *Escherichia coli*. *Antimicrob.Agents.Chemother.* 13 (1978) 770-783.
- [69]:A. Burguete, E.Pontiki, , R.Villar, E.Vicente, B. Solano, S. Ancizu , I. Aldanaa , A. Mongea; Synthesis and anti-inflammatory/antioxidant activities of some new ring substituted 3-phenyl-1-(1,4-di-N-oxide quinoxalin-2-yl)-2-propen-1-one derivatives and of their 4,5-dihydro-(1H)-pyrazole analogues. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 17 (2007) 6439–6443.
- [70]:F .Valeriotte, T .Corbett, M .Edelstein, L .Baker; New in vitro screening model for the discovery of antileukemic anticancer agents. *Clin.Sci.Rev.*14 (1996) 124–141.
- [71]:S.T. Hazeldine, L.Polin, J.Kushner, K.White, T.H. Corbett, J.Biehl, J.P. Horwitz; Part 3: Synthesis and biological evaluation of some analogs of the antitumor agents, 2-{4-[(7-chloro-2-quinoxalinyloxy)phenoxy]propionic acid, and 2-{4-[(7-bromo-2-quinolinyloxy)phenoxy]propionic acid. *J.Bioorg.Med.Chem.* 13 (2005) 1069–1081.
- [72]:H.Gao, E.F. Yamasaki, K.K. Chan, L.L. Shen, R.M. Snapka; DNA Sequence Specificity for Topoisomerase II Poisoning by the Quinoxaline Anticancer Drugs XK469 and CQS. *Mol Pharmacol.* 63 (2003) 1382–1388.

[73]:N. Kawanishi, T.Sugimoto, J.Shibata, K.Nakamura, K.Masutani, M.Ikuta , H. Hirai; Structure-based drug design of a highly potent CDK1,2,4,6 inhibitor with novel macrocyclic quinoxalin-2-one structure. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 16 (2006) 5122–5126.

[74]:M. J. Waring, T. Ben-Hadda, A. T. Kotchevar, A. Ramdani, R.Touzani, S. Elkadiri , A. Hakkou, M. Bouakka , T.Elli; 2,3-Bifunctionalized Quinoxalines: Synthesis, DNA Interactions and Evaluation of Anticancer, Anti-tuberculosis and Antifungal Activity. *J.Molecules.* 7 (2002) 645-646.

[75]: J.Li, J. Chen, L. Zhang, F.Wang, C. Gui,Y. Qin, Q. Xu, H. Liu, F.Nan, J. Shen, D. Bai, K.Chen, X.Shena, H. Jianga; One novel quinoxaline derivative as a potent human cyclophilin A inhibitor shows highly inhibitory activity against mouse spleen cell proliferation. *J.Bioorg.Med.Chem.* 14 (2006) 5527–5534.

[76]:X.Hui, J. Desrivot, C. Bories, P. M. Loiseau, X. Franck, R. Hocquemiller, B.Figadere; Synthesis and antiprotozoal activity of some new synthetic substituted quinoxalines. *J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 16 (2006) 815–820.

[77]:G. W. H.Cheeseman; In the Chemistry of Heterocyclic Compounds. *J.Chem.Soc.* (1957) 3236.

[78]:G. W. H.Cheeseman, R. F.Cookson; Condensed Pyrazines. In *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Inc.*: New York, 35 (1979) 78-111.

[79]: J.Oble, Nouvelles réactions multicomposant avec des phénols et des isonitriles, Thèse de Doctorat, L'écoule polytechnique. (2007).

[80]:A. Fleming, Classics in infectious diseases: on the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae* by Alexander Fleming, Reprinted from the British. *J.Experimental.Pathology.* 10 (1929) 226-236

[81]:E. F. H.Chain, AD.Gardner, N.G .Heatley, M.A .Jennings, J .Orr-Ewing, A.G .Sanders; Penicilin as a chemotherapeutic agent. *Lancet.* 2 (1940) 226.

- [82]:S.Thiele-Bruhn; Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *J.Plant.Nutr. Soil.Sci.* 166 (2003) 145–167.
- [83]:M..M. Janot, J.Keufer ; Mécanismes biochimiques de l'activité des antibiotiques. Masson, Paris (1953) 1.
- [84]:R. R Rando;Mechanisms of action of naturally occurring irreversible enzyme inhibitors. *Acc. Chem. Res.* 8 (1975) 281-288.
- [85]:J. V. Holtje; Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 62(1) (1998) 181-203.
- [86]:J. F Garcia-Bustos, B. T. Chait, A.Tomasz; Structure of the peptide network of pneumococcal peptidoglycan, *J.Biol.Chem.* 262 (32) (1987) 15400-5.
- [87]:O.Gaillot ; Caractéristiques et mode d'action des antibiotiques. (2007) 6.
- [88]:J.Heijenoort; Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiology. J.Bioorg.Med.Chem.Lett.* 11 (2001) 25R-36R.
- [89]:J.v.Heijenoort; Recent advances in the formation of the bacterial peptidoglycan monomer unit.*Nat. Prod. Rep.* 18 (2001) 503–519.
- [90]:D.Hendlin, E. O.Stapley, M.Jackson, H.Wallick, A. K.Miller, F. J.Wolf, T.W.Miller, L.Chaiet, F. M.Kahan, E. L.Foltz, H. B.Woodruff, J. M.Mata, S.Hernandez, S.Mochales; Phosphonomycin, a New Antibiotic Produced by Strains of *Streptomyces*. *Science.* (1969)166, 122-123.
- [91]:P.K. Thanosa, C.Bermeo, G.JackWang, N.D. Volkow; D-Cycloserine accelerates the extinction of cocaine-induced conditioned place. *Behavioural Brain Research.* 199 (2009) 345–349
- [92]:D. R. Storm, J. L. Strominger; Biological activity of proinsulin and related polypeptides in the fat tissue. *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 3940 - 3945.

[93]: M. A. Kohanski, D.J. Dwyer, B. Hayete, C.A. Lawrence, J.J. Collins; A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. Elsevier Inc. 130 (2007) 797–810.

[94]: P. M. Blumberg, J. L. Strominger; Interaction of penicillin with the bacterial cell: penicillin-binding proteins and penicillin-sensitive enzymes. Bacteriol Rev. 38 (1974) 291-335.

[95]: P. Macheboeuf, C. Contreras-Martel, V. Job, O. Dideberg; Penicillin binding proteins: key players in bacterial cell cycle and drug resistance processes. FEMS Microbiol. Rev. 30 (2006) 673–691.

[96]: W.P. Hammes, F.C. Neuhaus; On the Mechanism of Action of Vancomycin: Inhibition of Peptidoglycan Synthesis in *Gaffkya homari* H. R. Perkins, Antimicrobial agents and chemotherapy, Dec. 6 (1974) 722-728.

[97]: Y. Qin, N. Polacek, O. Vesper, E. Staub, E. Einfeldt, D.N. Wilson, K.H. Nierhaus; The highly conserved LepA is a ribosomal elongation factor that back-translocates the ribosome Cell. 127 (2006) 721–733.

[98]: M. Neal, Pharmacologie médicale, 2^{ème} édition française, (2002) 84.

[99]: J. Pohlsgaard, S. Douthwaite; The bacterial ribosome as a target for antibiotics. Nat. Rev. Microbiol. 3 (2005) 870–881.

[100]: T. Tenson, M. Lovmar, M. Ehrenberg; The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome, J. Mol. Biol. 330 (2003) 1005–1014

[101]: J. H. Boothe, J. Morton, J. P. Petisi, R. G. Wilkinson, J. H. Williams; Tetracycline. J. Am. Chem. Soc. 75 (1953) 4621-4621.

[102]: G. D. Wright, A. M. Berghuis, S. Mobashery; Aminoglycoside antibiotics. Structures, functions, and resistance. Dans Resolving the antibiotic paradox: progress in understanding drug resistance and development of new antibiotics. Plenum Press, New York. (1998) 27-69

- [103]:M .Fry, M Israeli-Reches , M Artman; Stabilization and breakdown of Escherichia coli messenger ribonucleic acid in the presence of chloramphenicol. *Biochemistry*. 11 (1972) 3054-3059.
- [104]:J. C. H.Mao, E. E. Robishaw; Erythromycin, a peptidyltransferase effector. *Biochemistry*. 11 (1972) 4864-4872.
- [105]:J.R. Menninger; Mechanism of inhibition of protein synthesis by macrolide and lincosamide antibiotics. *J.Basic.Clin.Physiol.Pharmacol*. 6 (1995) 229-250.
- [106]:E. J. H Chu; Derivatives of Sulfanilamide. I. N⁴-(p-Aminobenzoyl)-sulfanilamide and Related Compounds. *J. Am. Chem. Soc*. 67 (1945) 2243-2244.
- [107]:S.Esposito, S.Noviello, F. Ianniello; Comparative in vitro Activity of Older and Newer Fluoroquinolones against Respiratory Tract Pathogens. *Chemotherapy*. 6 (2000) 309-314.
- [108]:K.Drlica, X. Zhao; DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol.Mol.Biol.Rev*. 61 (1997) 377-392.
- [109]: H. C. Neu; The crisis in antibiotic resistance. *Science*. 257 (1992) 1064-1073.
- [110]: M.Lipsitch, R. S. Singer,B. R. Levin, Antibiotics in agriculture: when is it time to close the barn door. *Proc.Natl.Acad. Sci.USA*. 99 (2002) 5752-5754.
- [111]: E. F.Gale, E. Cundliffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond, M. J. Waring; The molecular basis of antibiotic action, 2^{ème} edition, (1981).
- [112]: S.B. Levy; Nontransferable resistance: still a problem. In *The antibiotic paradox*. Plenum Publishing Co.New-York. (1992) 87-89.
- [113]:B.Berezine, P.Dellamonicap; *Antibiothérapie en pratique clinique* Masson, Paris, 2^{ème} édition, (1999) 33-37, 48, 66-68.
- [114]:B.G.Spratt, J.A.Vasquez, S.Berron, M.O'Rourke, G Carpenter, E.Feil, N.H. Smith ; Interspecies recombination in nature: a meningococcus that has acquired a gonococcal PIB ponn. *Mol. Microbiol*. 15 (1995) 1001 -1 007.

- [115]: B.G.Spratt, C.G.Dowson, T.J. Coffey; Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding-protein-mediated resistance to B-lactam antibiotics. *Trends Microbiol.* 2 (1994) 362-366.
- [116]: C. Poyart ; Résistance des bactéries aux antibiotiques, *Antimicrob.agents.chemother.* 6 (2003) 72.
- [117]:D.Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouarkorich; Résistance bactérienne aux antibiotique. *Antimicrob.agents.chemother.* 5 (2001)13.
- [118]: P. Lavigne; Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. *Antimicrob.agents.chemother.* 5 (2007)1.
- [119]: C. Poyart ; Origine et évolution de la résistance aux antibiotiques. *Antimicrob.agents.chemother.* 2 (2002) 62.
- [120]: F.Jehl, M.Chomarat, M.Weber A.Gerard; L'antibiogramme à la prescription, Biomérieux, Nancy L'étoile, 2^{ème} édition, (2003) 8-31.
- [121] : P .Courvalin, A .Philippon; Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens.In : Le MinorL ;Véron M. éds.bactériologie médicale, Paris :flammarion. (1989) 332-355.
- [122] : V. Jarleir; Mécanismes de résistance aux antibiotiques. *Antimicrob.agents.chemother* (1997) 46.
- [123]: K.J Shaw; et al; Characterization of the chromosomal aac(6')-Ic gene form *Serratia marcescens*. *Antimicrob.agents.chemother.* 36 (1992) 1447-1455.
- [124]: K.J Shaw; P.N Rather, P.S Hare, H Miller; Molecular genetic of aminoglycosides resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol.rev.* 57 (1992) 138-163.
- [125]: H.Nikaido; Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbio.Rev.* 49 (1985) 1-32.
- [126]: L.Gutmann, et al; Cross-resistance to nalidixic acid trimethoprim and with alterations in

outer membrane proteins of Klebsiella, Enterobacter, and Serratia. J. inf dis. 151(1985) 501-507.

[127]: S.levy; Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. Antimicrobial.agents.chemother. 36 (1992) 695-703.

[128]: H .Nikaido; Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. science. 264 (1994) 382-388.

[129]: N.H .Georgopapadakou.S.A Smith; R.B Sykes; Mode of action of azthreonam, Antimicrob.agents.chemother. 2(1982) 950-956.

[130]: E. Cambau, L. Gutmann; Mechanism of resistance to quinolone. Drug. 45 (1993) 15-23.

[131]:H. Nikaido; Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. Antimicrob.agents.chemother. 33 (1989) 1831-1836.

[132]: R.Leclercq, E .Derlot, J. Duval, P. Courvalin; Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in Enterococcus faecium. N. Eng.l. J. Med. 319 (1988) 157-161.

[133] : J.L. Fauchère, J.L. Avril ; Bactériologie générale et médicale, Ellipses, (2002).

[134]: M. Lis-Balchin, S. L. Hart et coll. Cidofovir ocular toxicity is related to previous ocular history. Phytotherap. Research. 4 (2000) 623.

[135]: S. A. Burt, R. D. Reinders; Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157. Lett. Appl. Microbiol. 36 (2003) 162.

[136]: J.Yves; Medicaments antibiotiques, 2^{ème} édition, Médicale international-Tec et doc. Lavoisier. Paris, (1992) 31.

ANNEXES

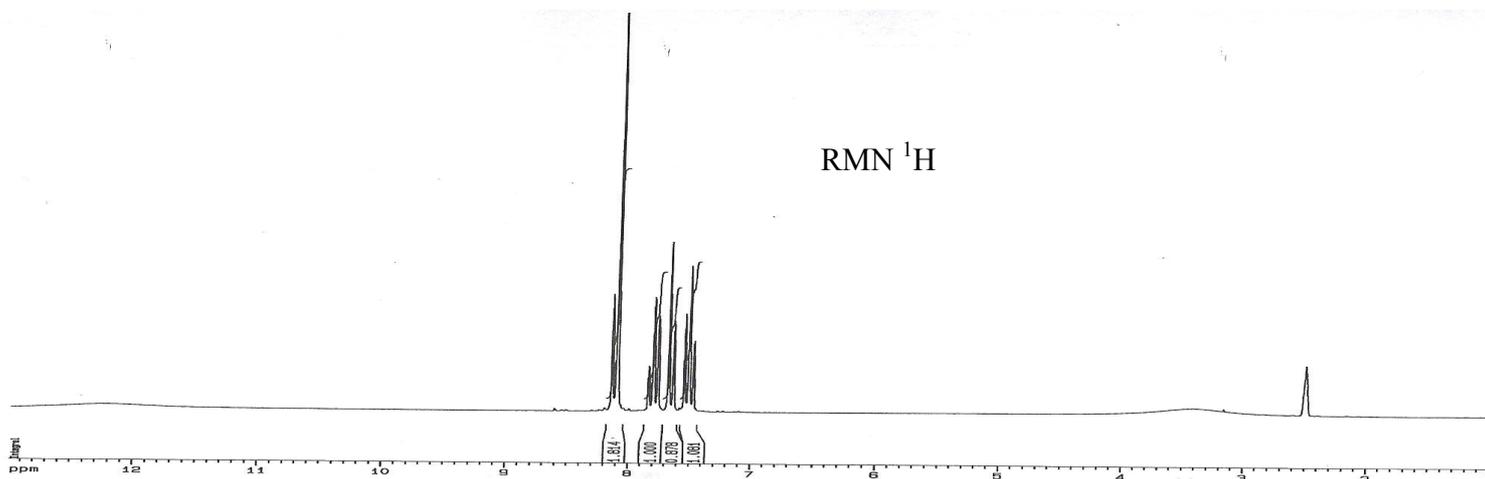
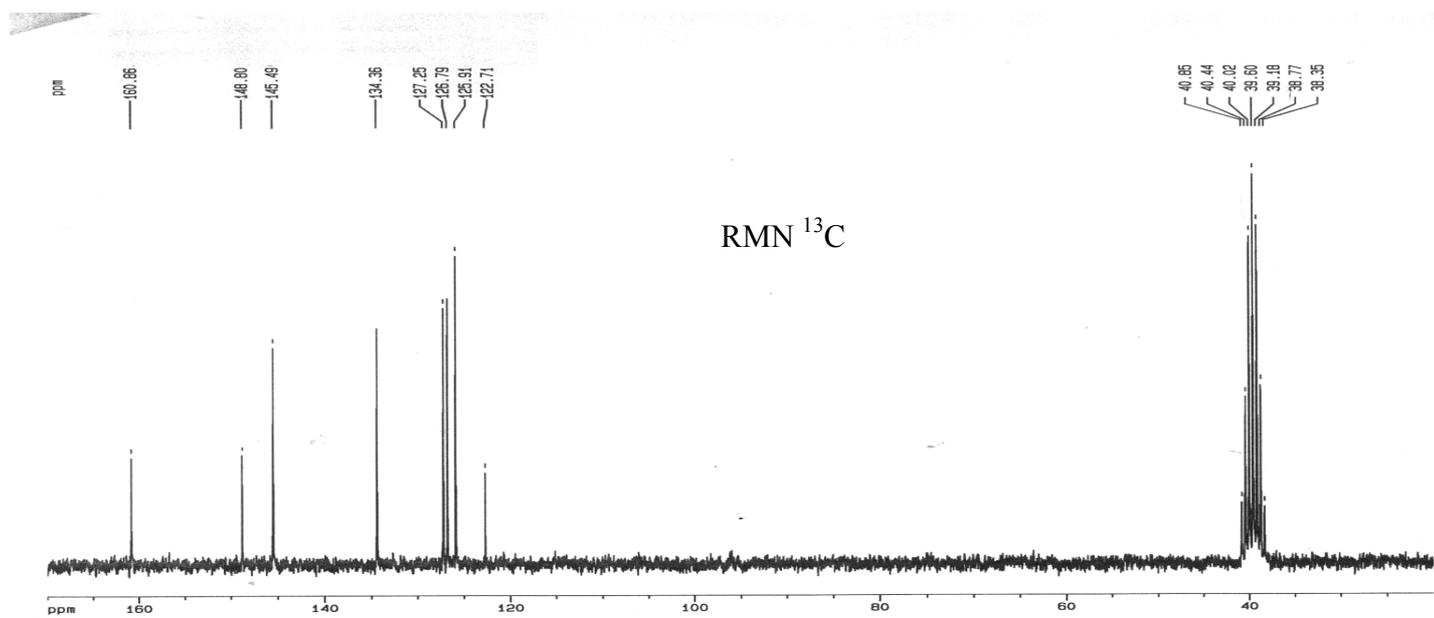
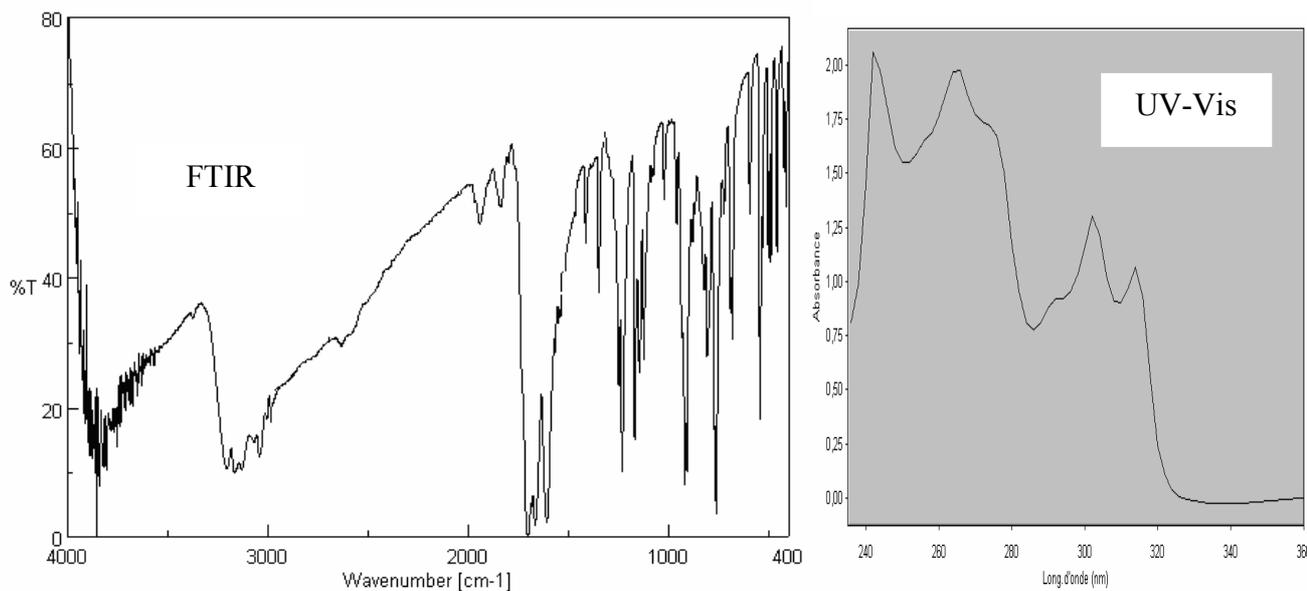


Fig.1 :.Spectres UV-Vis, FTIR et RMN ¹³C et ¹H de la quinazolin-4-ol (a).

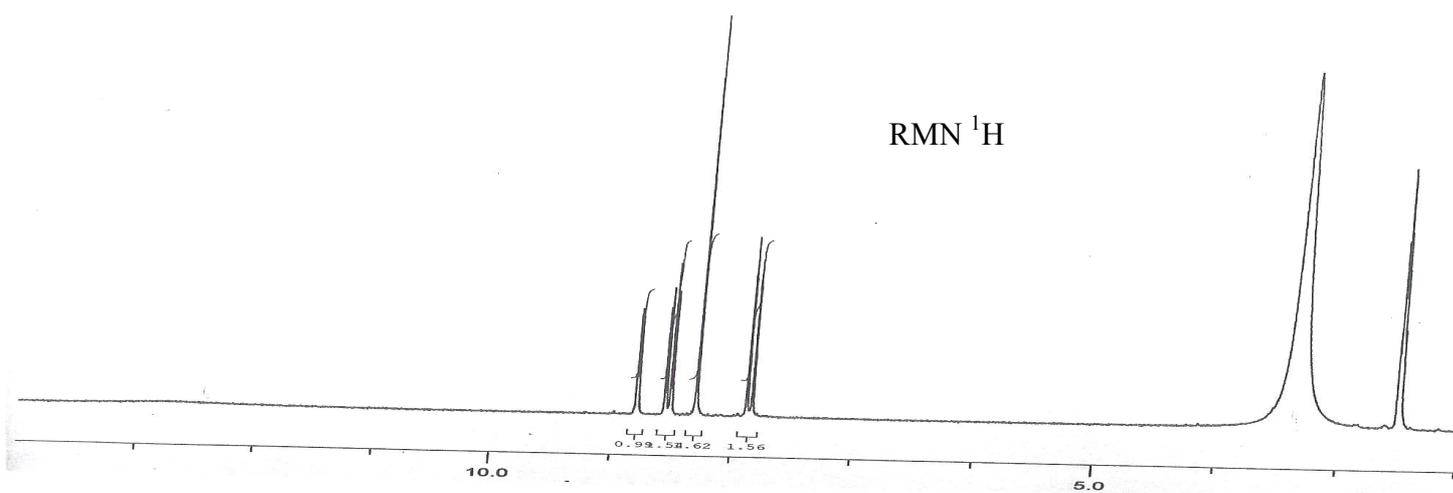
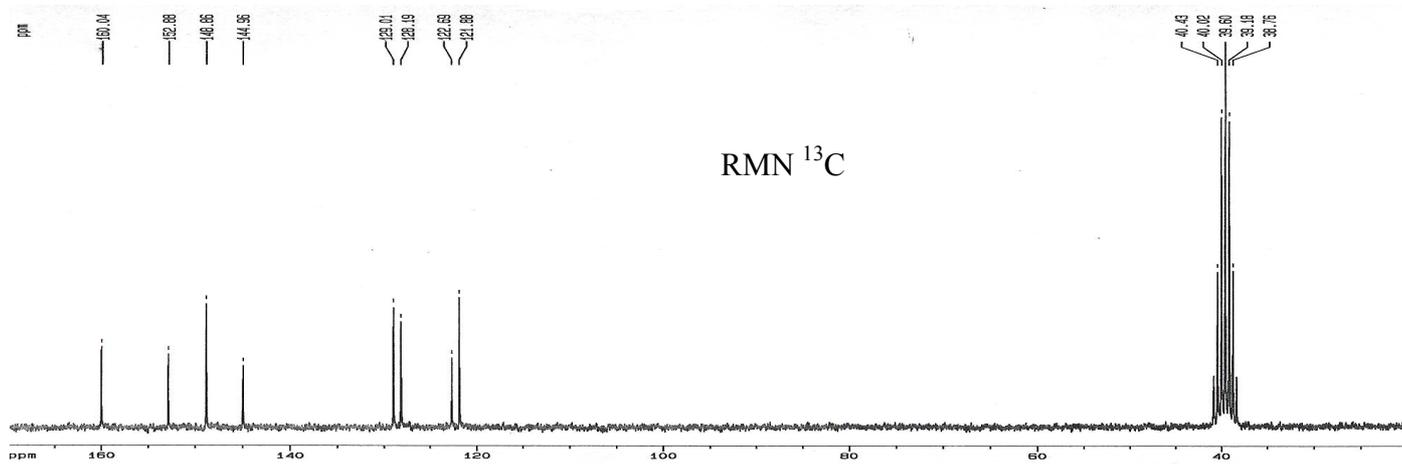
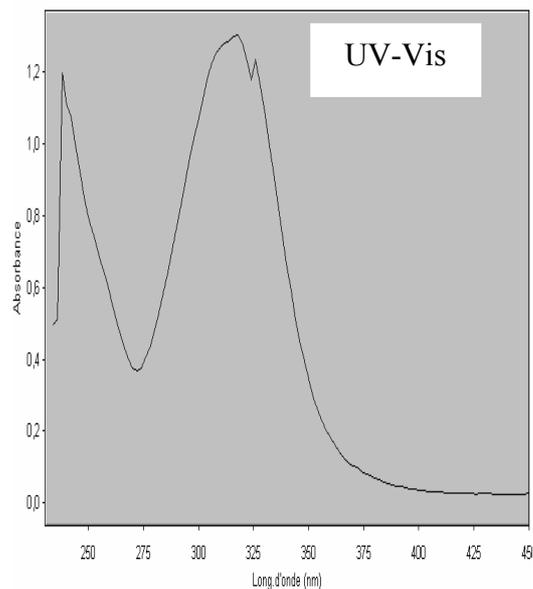
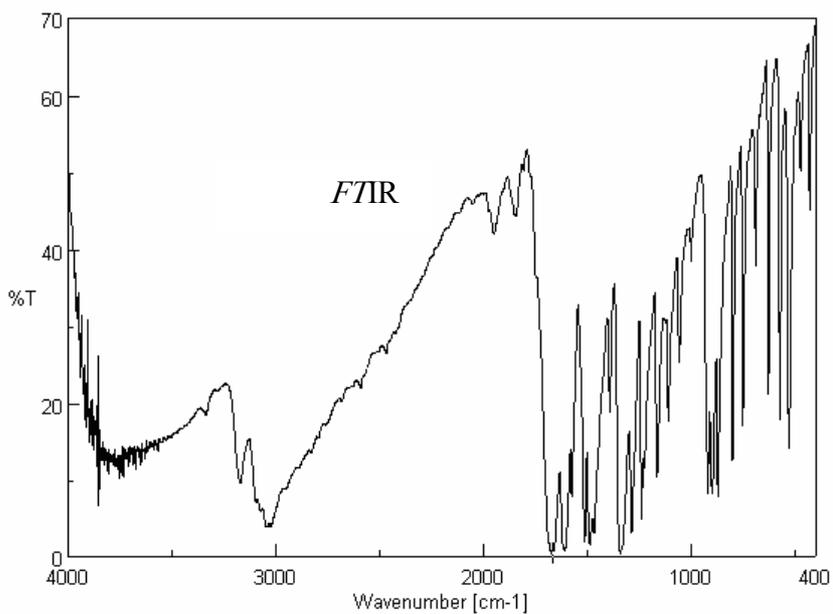


Fig.2 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la 6-nitroquinazolin-4-one (1a).

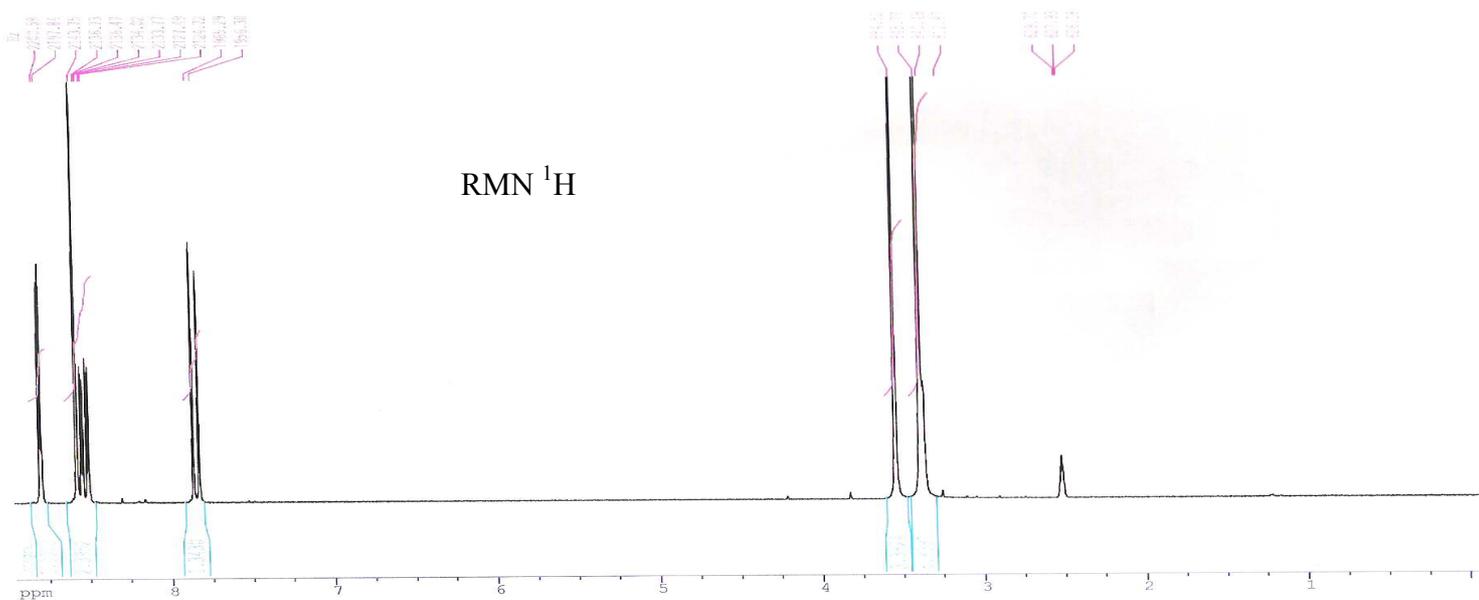
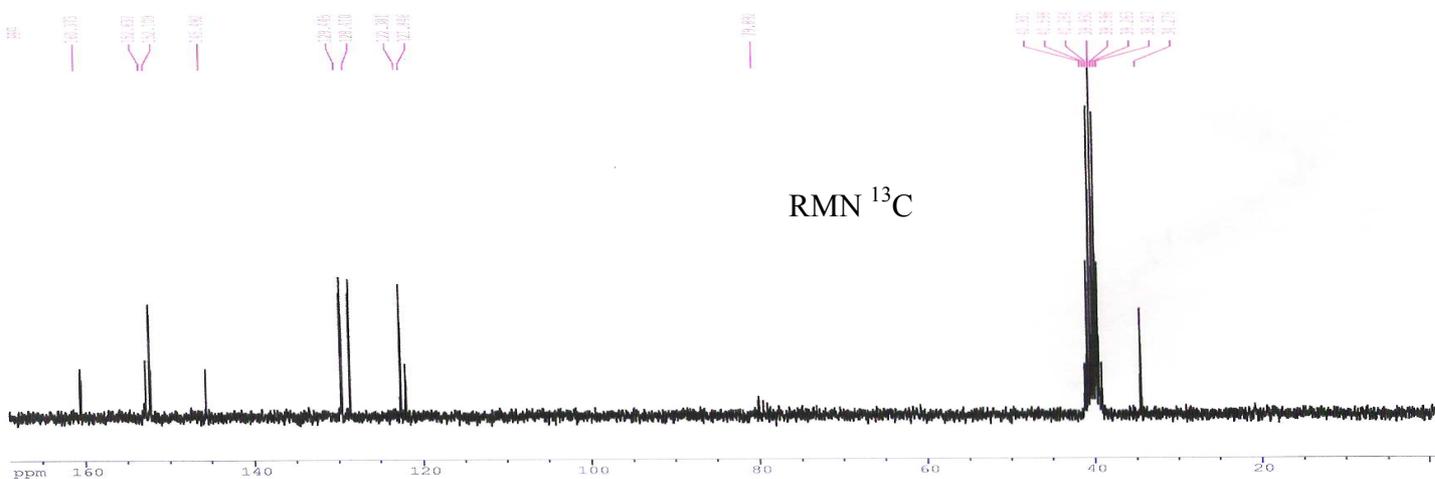
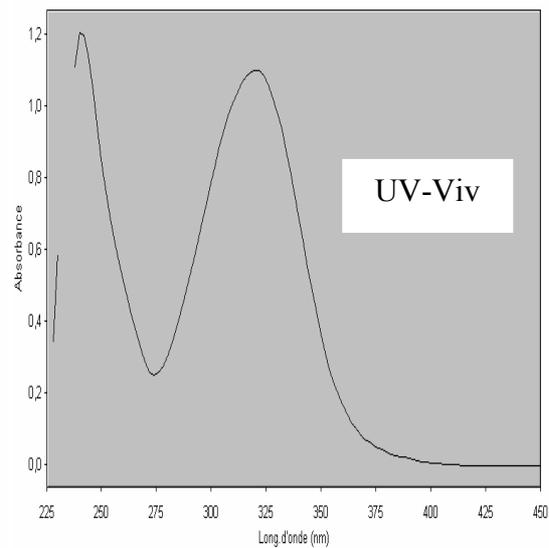
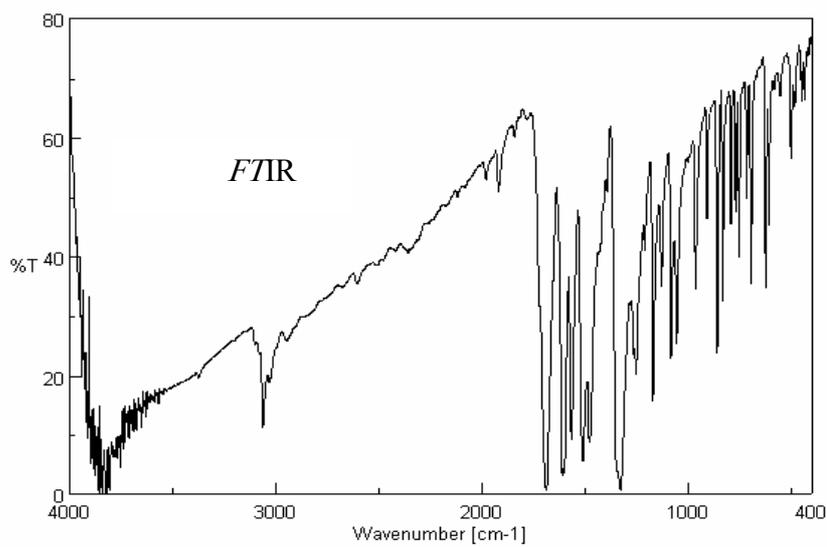


Fig.3 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la 3-méthyl-6-nitroquinazolin-4-one (2a).

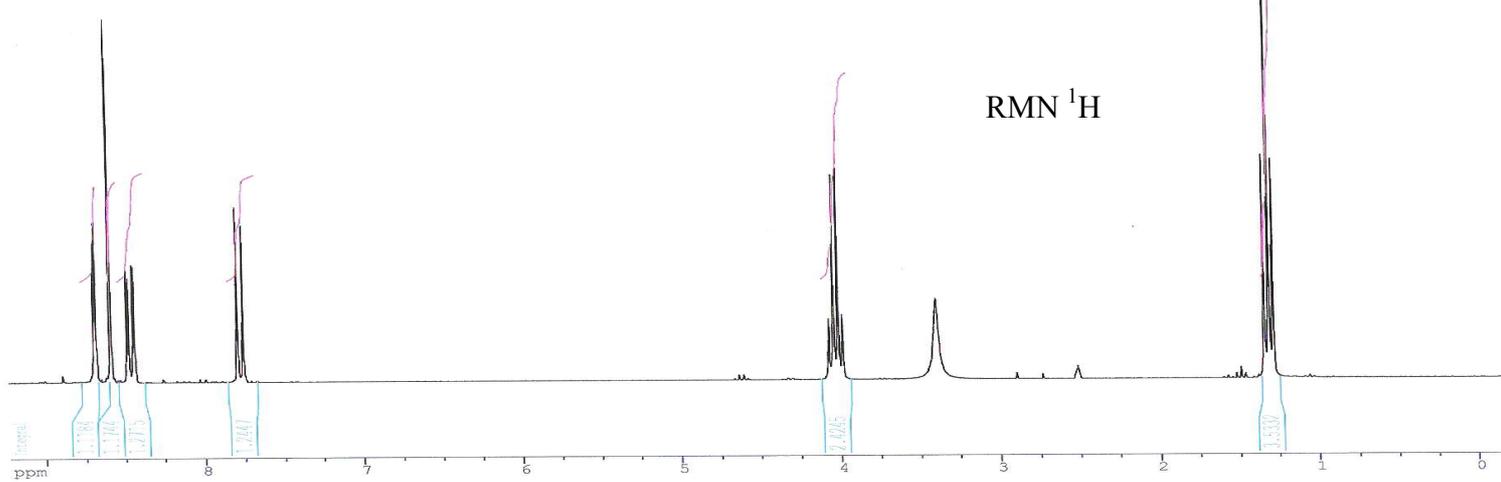
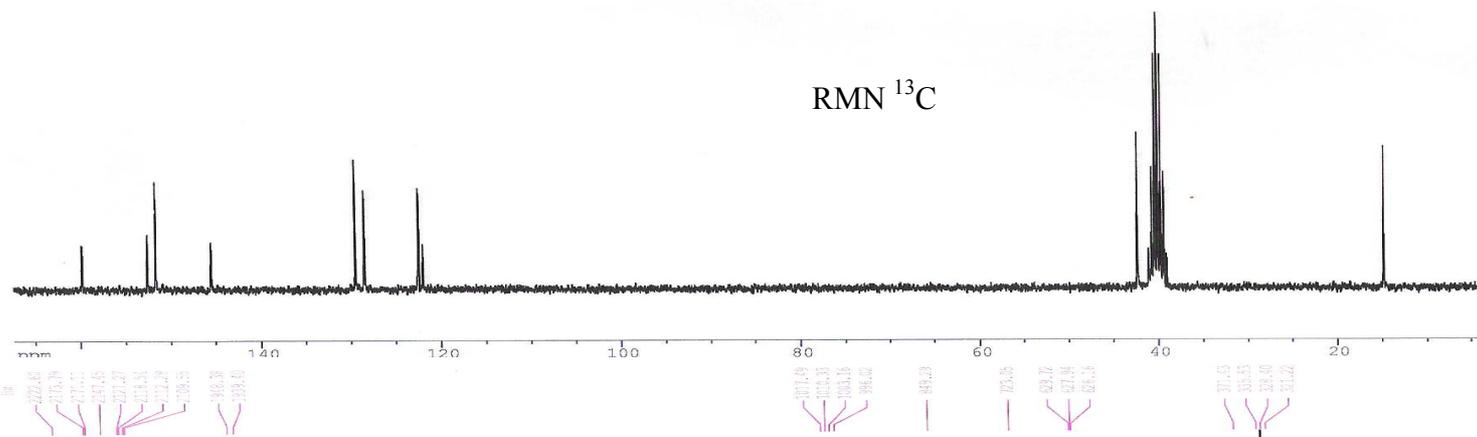
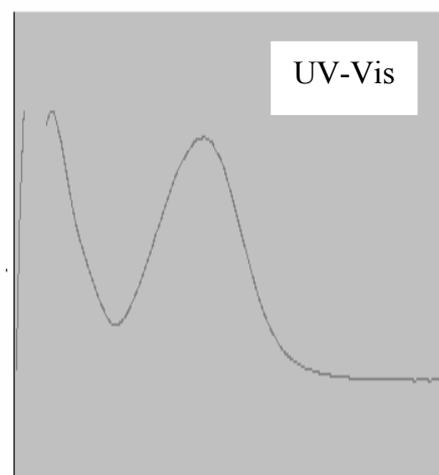
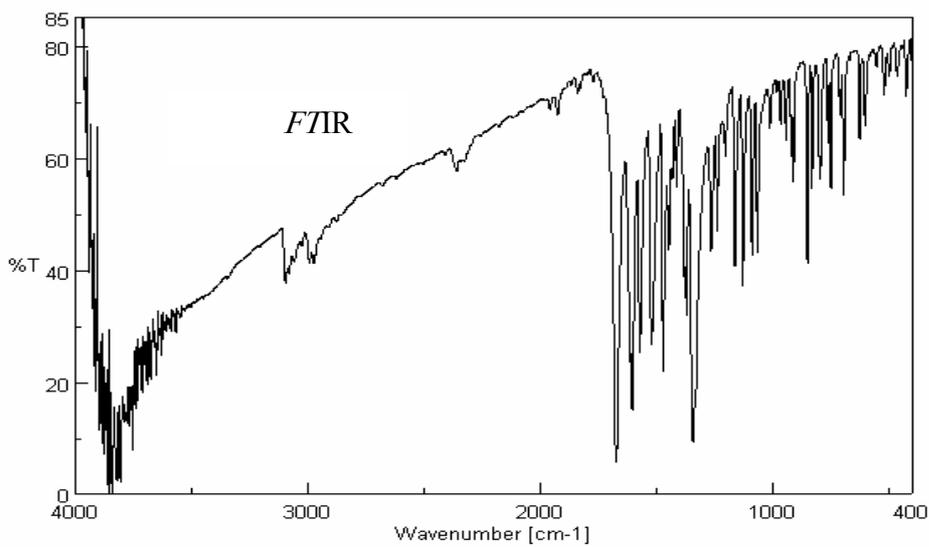


Fig.4 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la 3-éthyl-6-nitroquinazolin-4-one (3a).

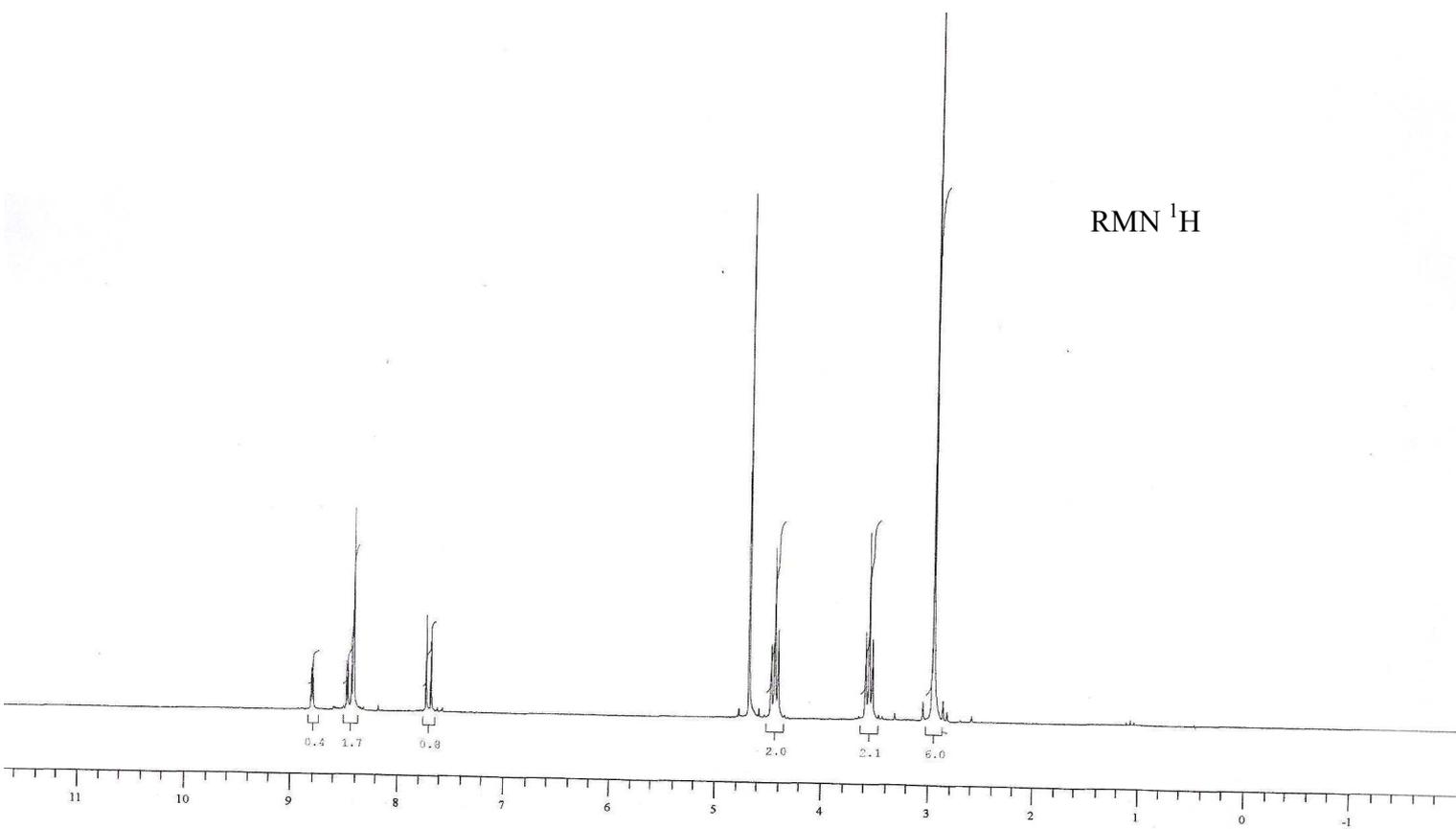
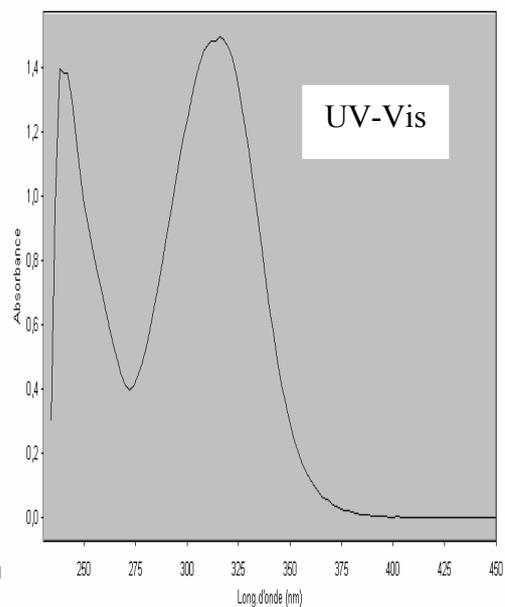
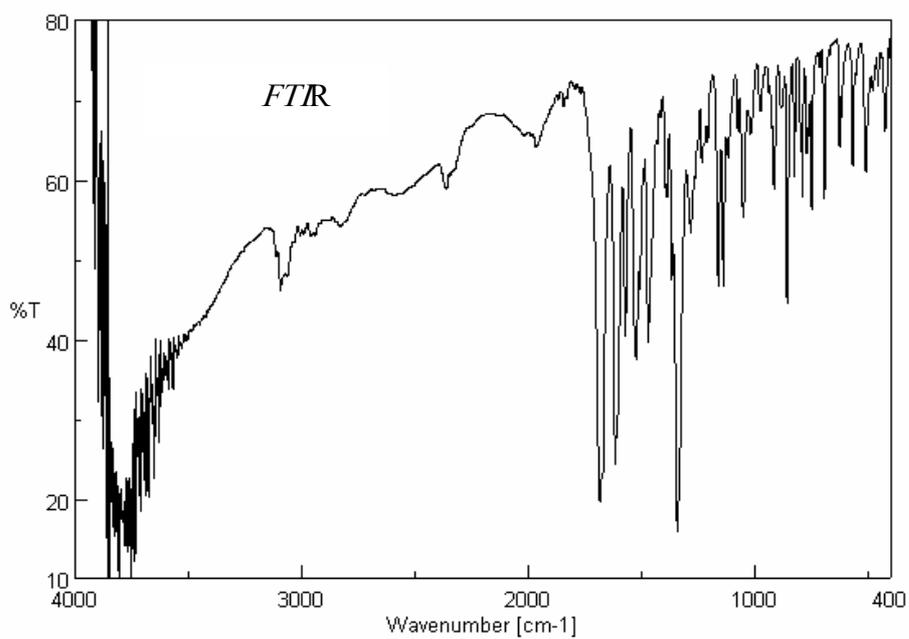


Fig.5 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ^{13}C et ^1H de la de3-(2-Diméthylaminoethyl) -6-nitroquinazolin-4-one (4a).

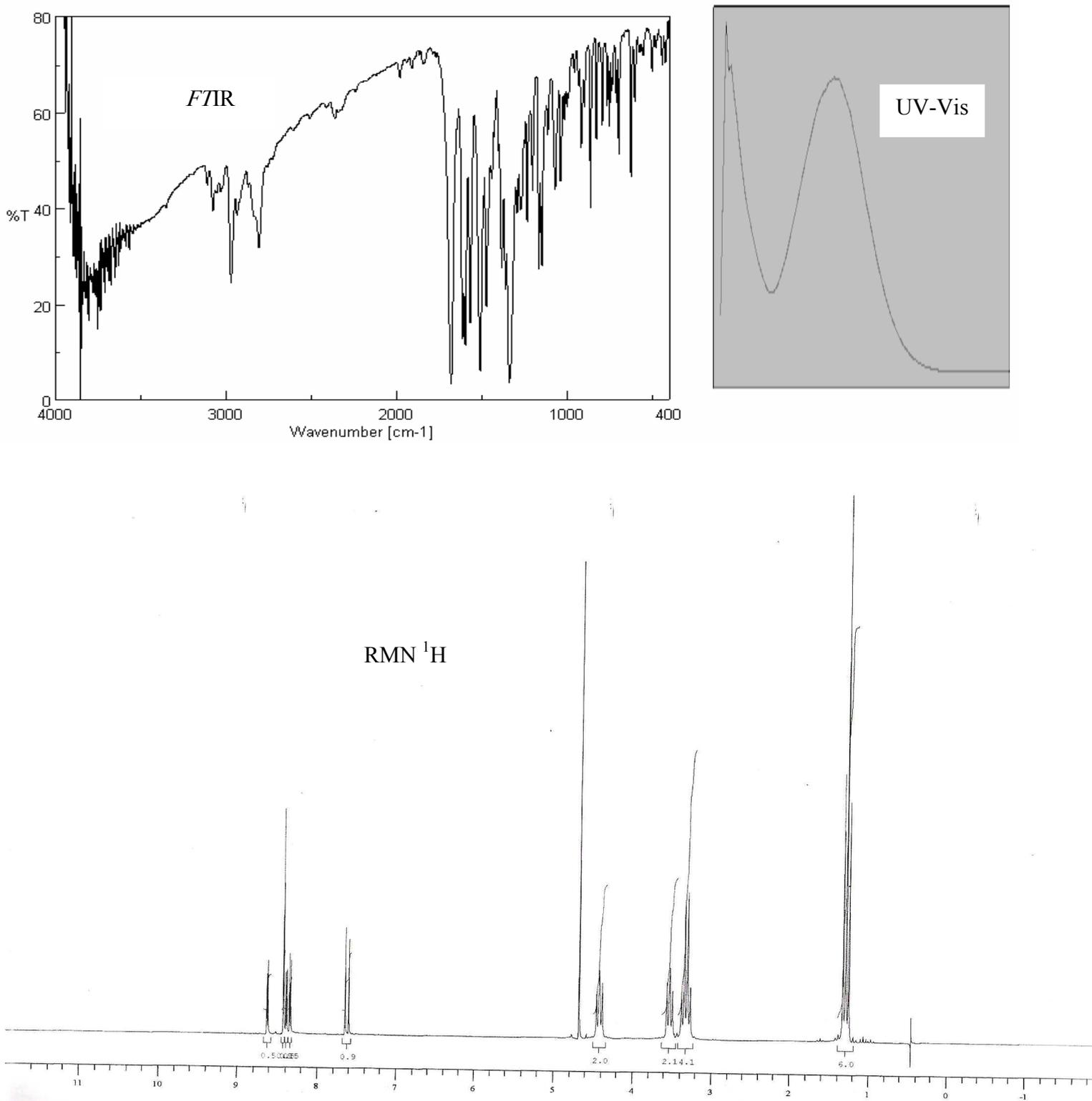


Fig.6 : Spectres UV-Vis, FTIR et RMN ¹H de la 3-(2-Diéthylaminoethyl)-6-nitroquinazolin-4-one (5a).

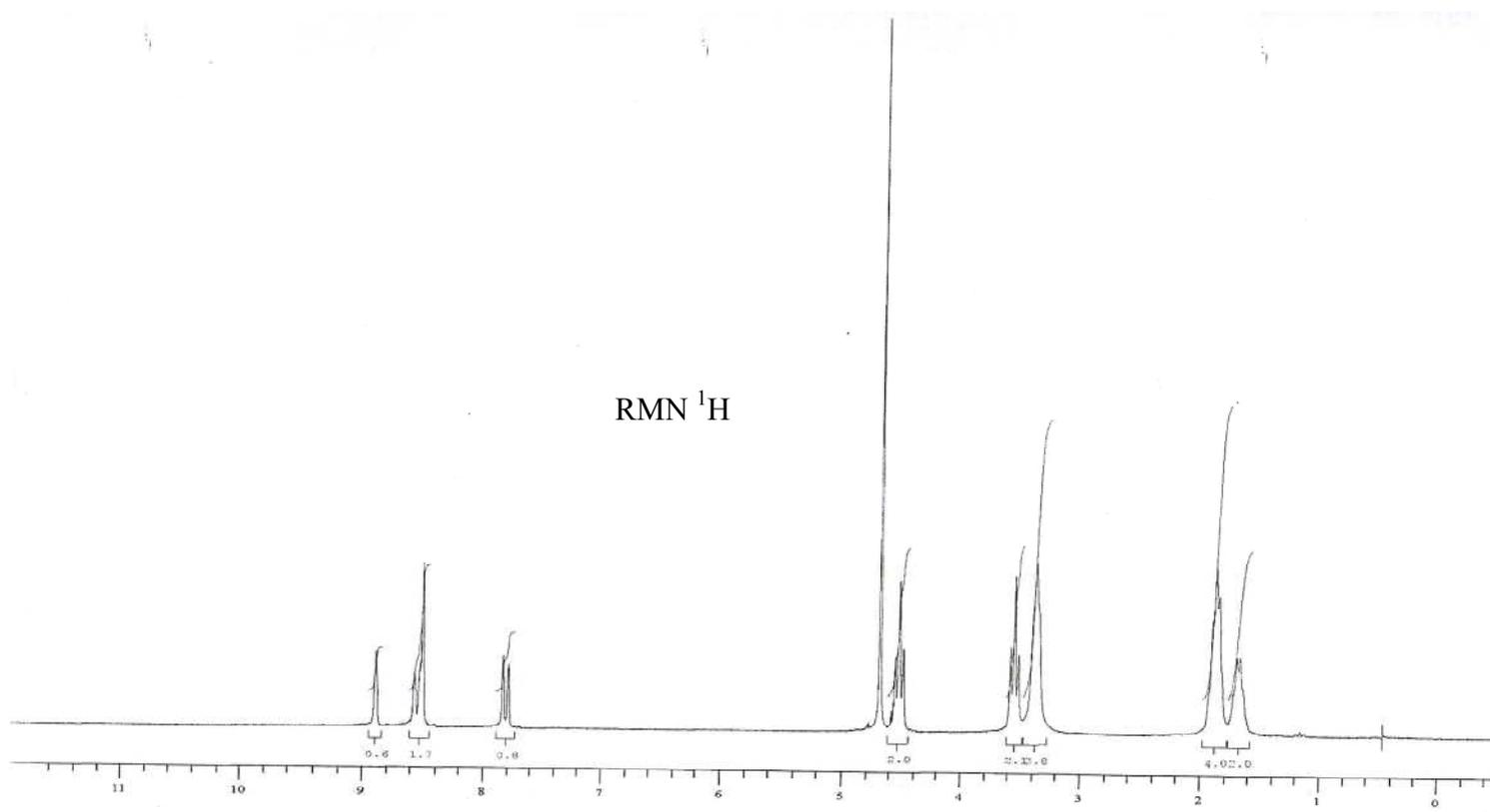
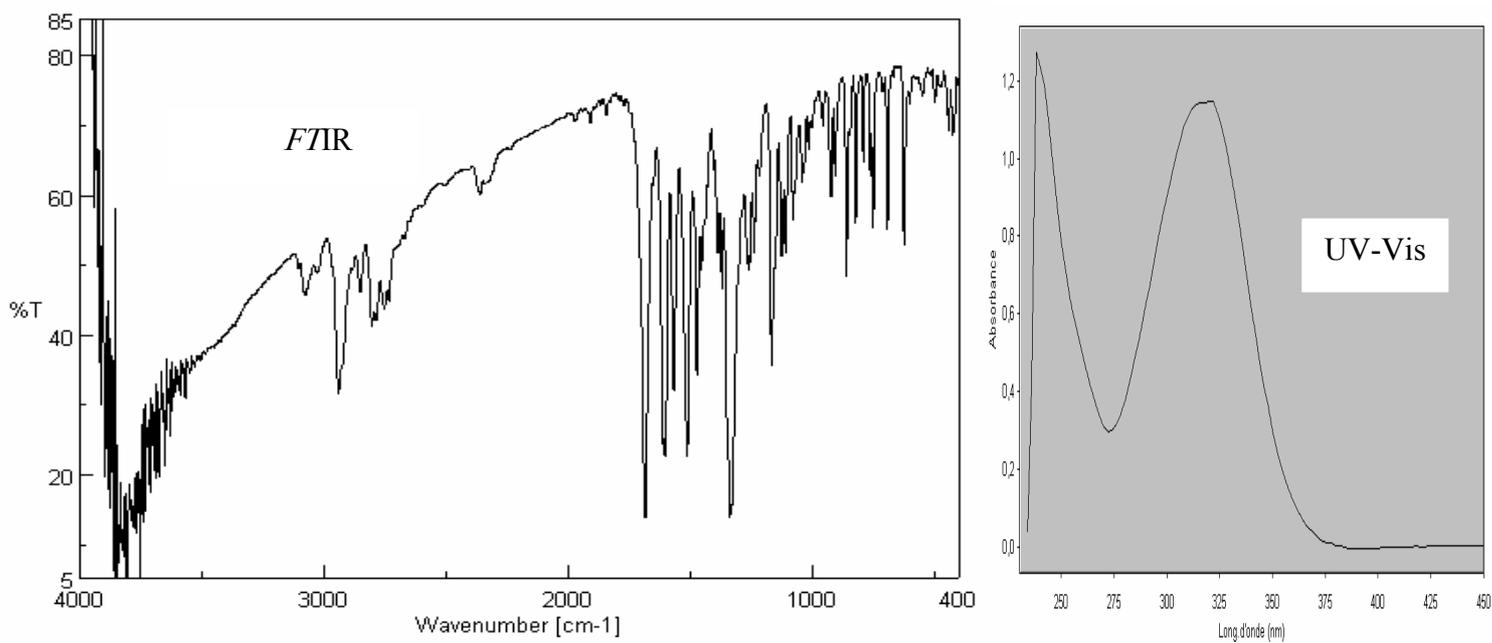


Fig.7 : Spectres UV-Vis, FTIR et RMN ¹H de la 3-(2-pipéridin-1-yl-éthyl)-6-nitroquinazolin-4-one (6a).

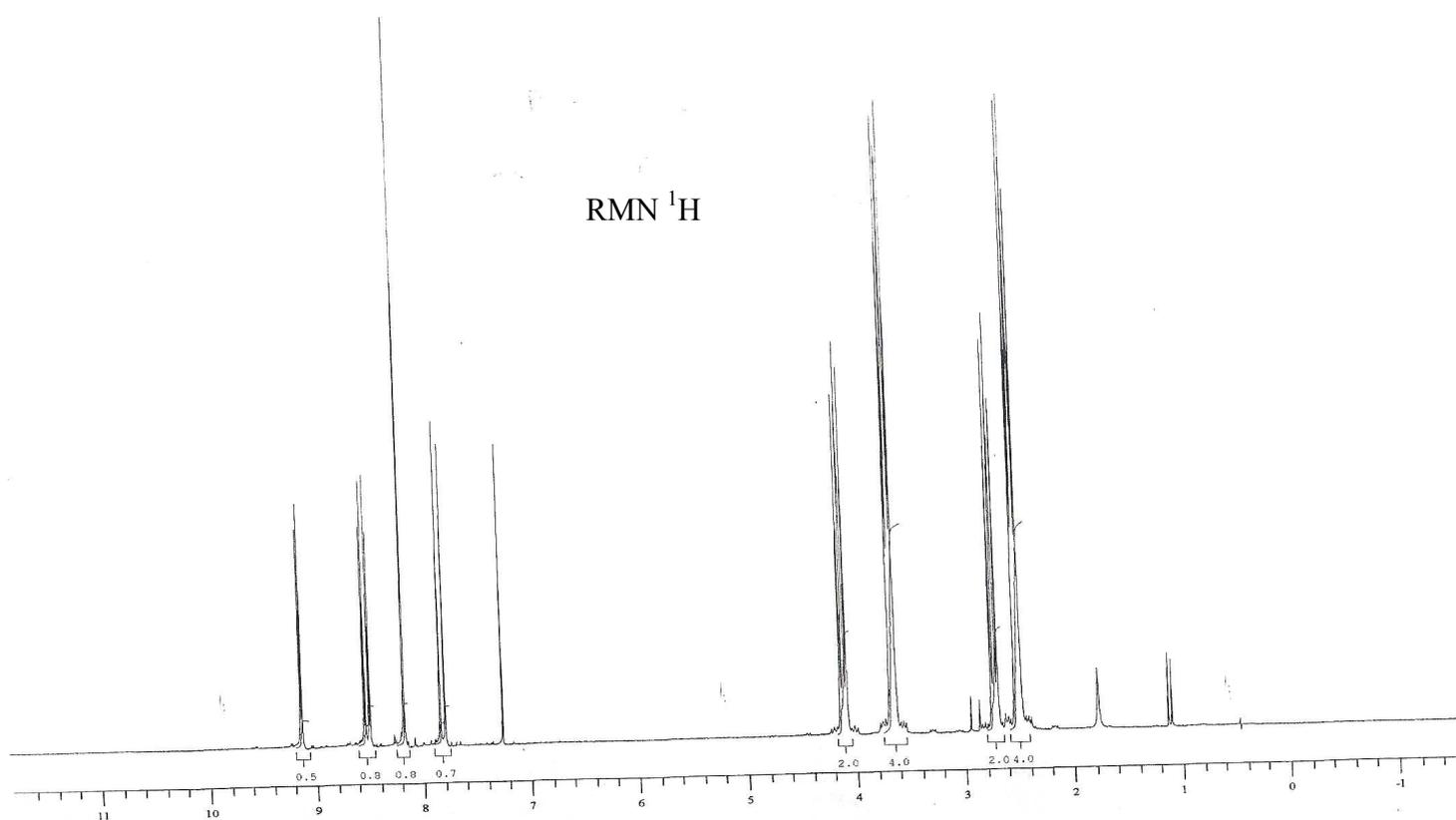
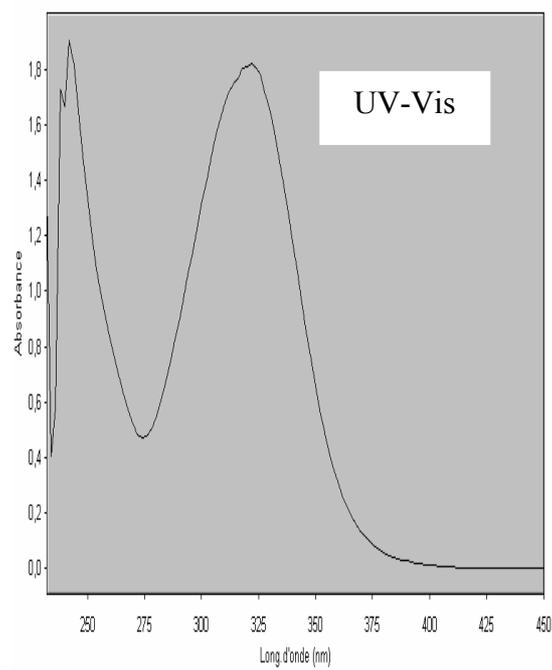
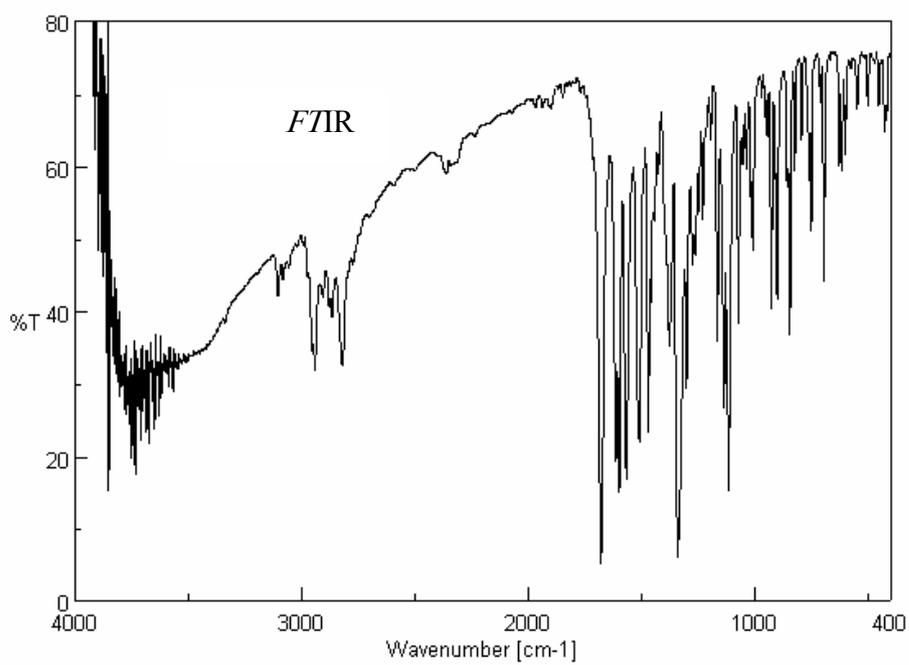


Fig.8 : Spectres UV-Vis, FTIR et RMN ¹H de la 3-(2-Morpholin-4-yl-ethyl)-6-nitro-quinazolin-4-one (7a).

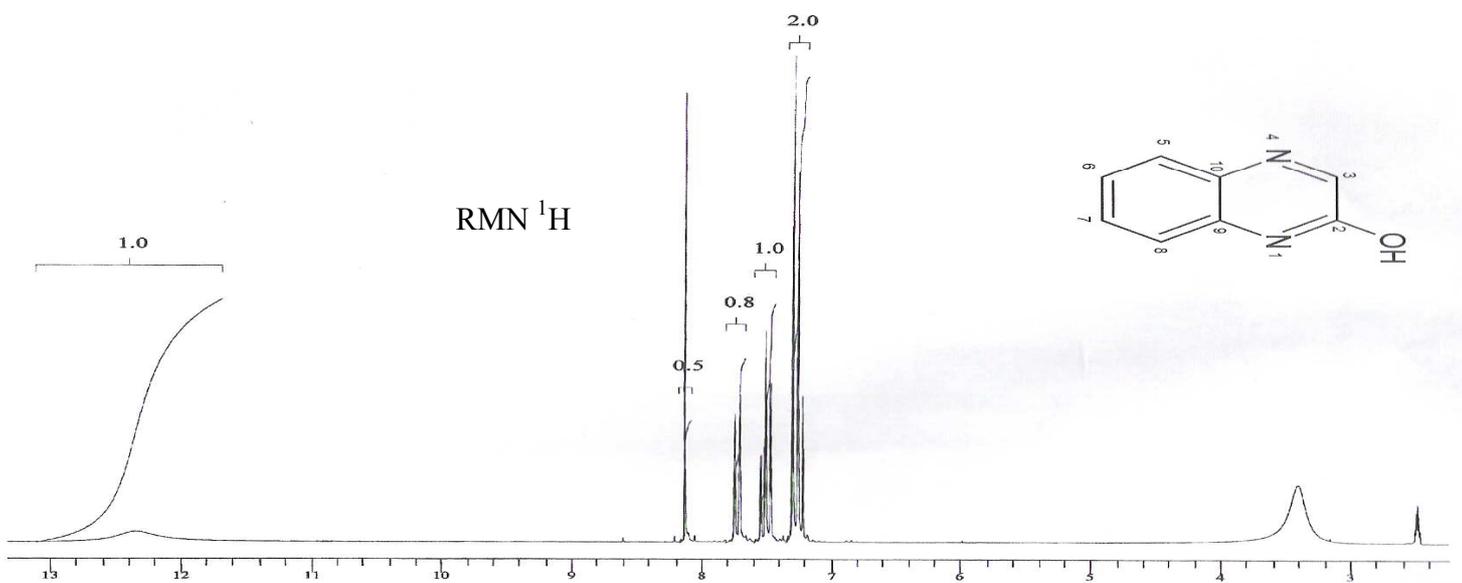
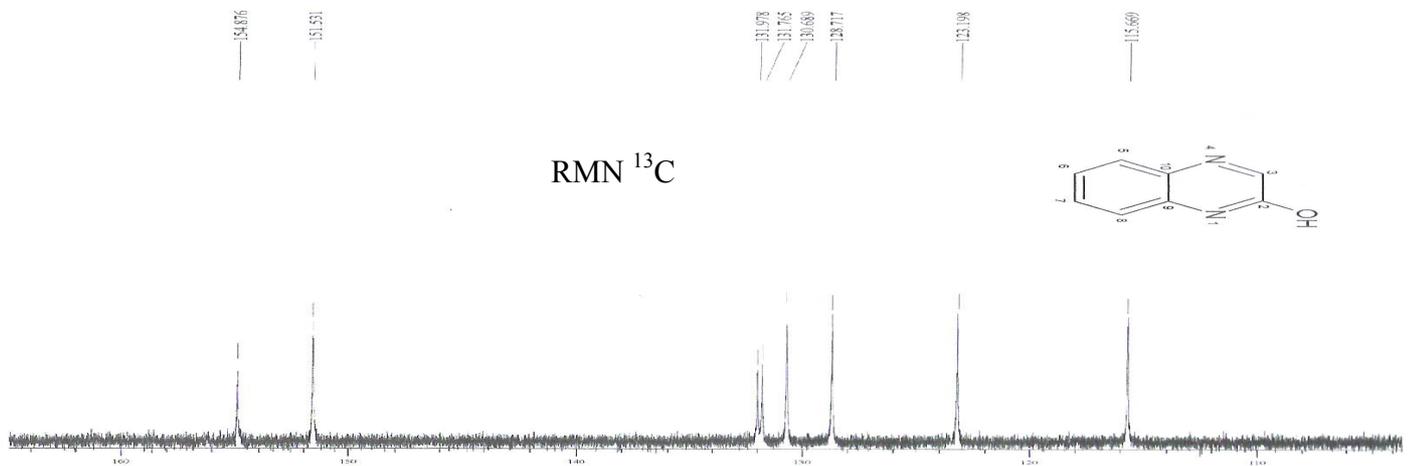
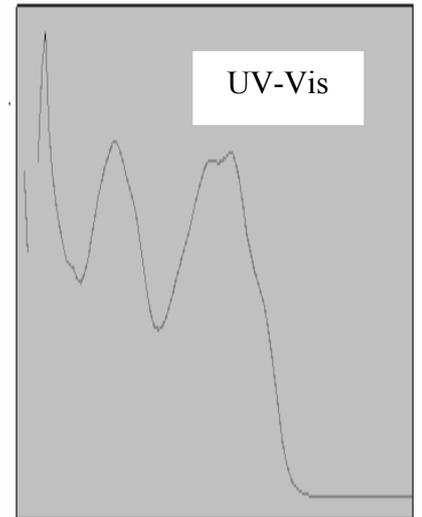
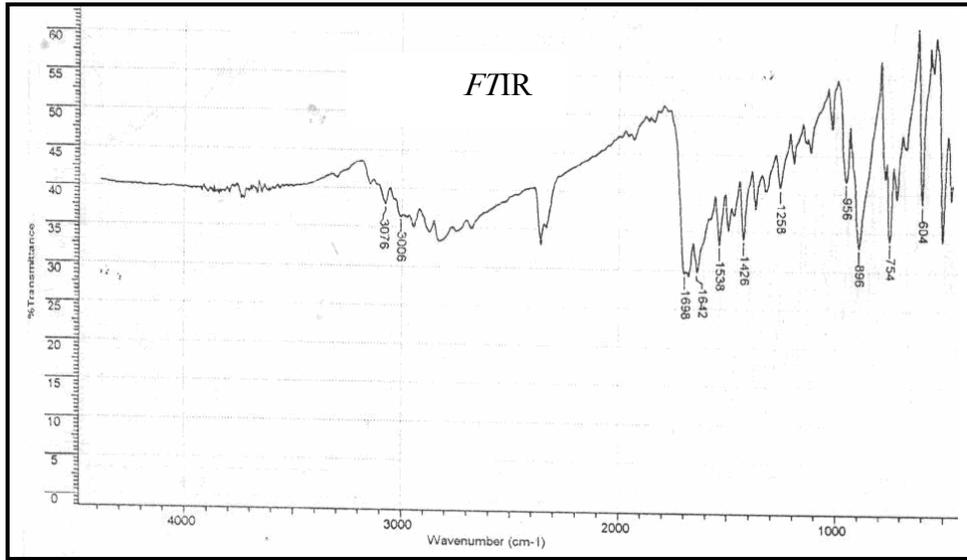


Fig.9 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la quinoxalin-2-ol (b).

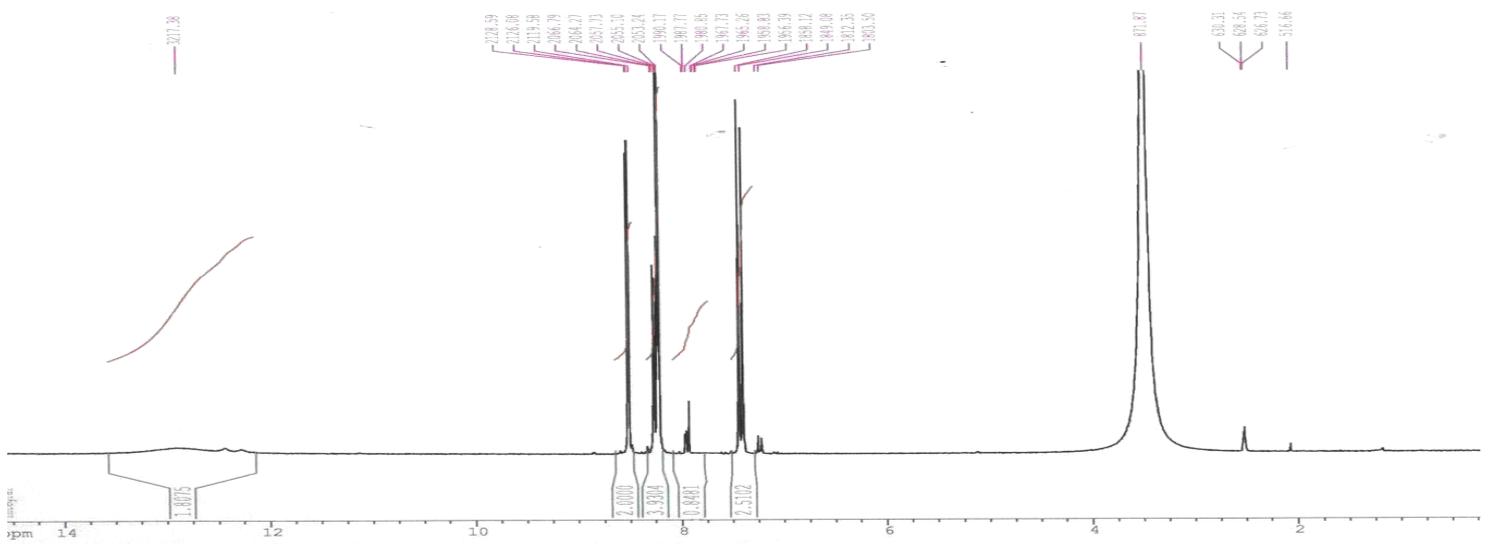
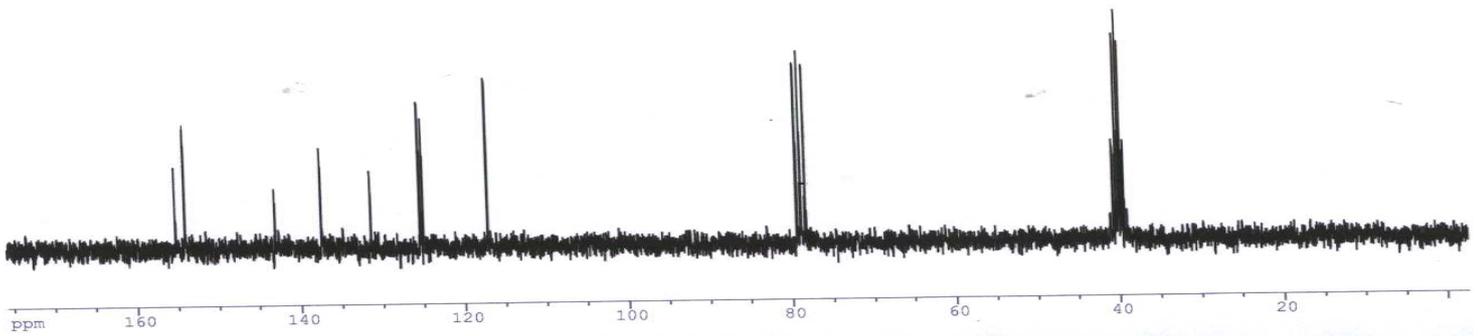
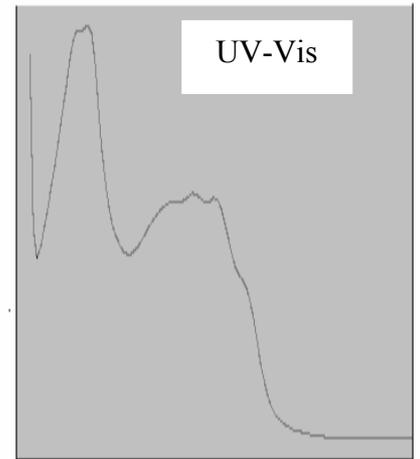
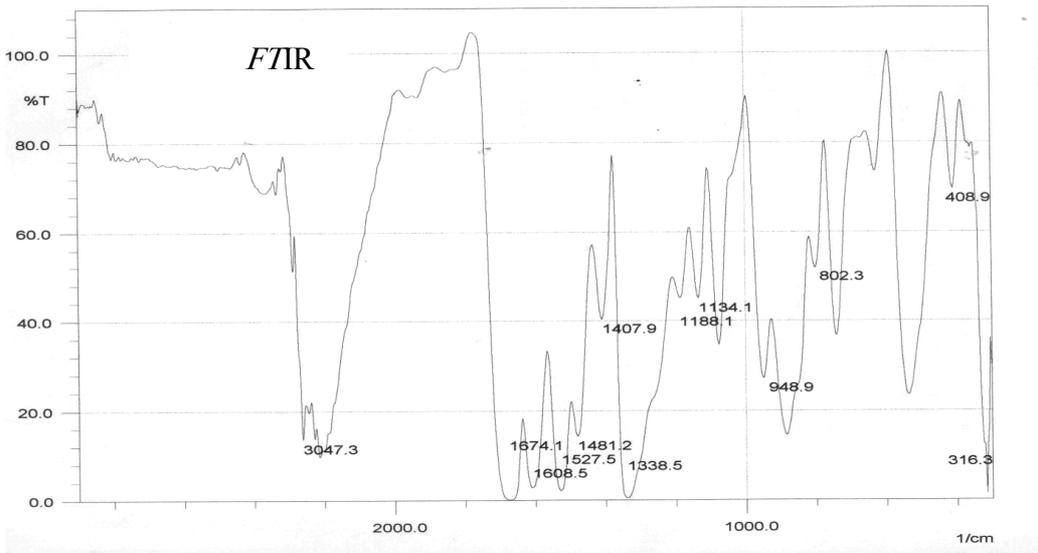


Fig.9 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ^{13}C et ^1H de la 6-nitroquinoxalin-2-ol (1b).

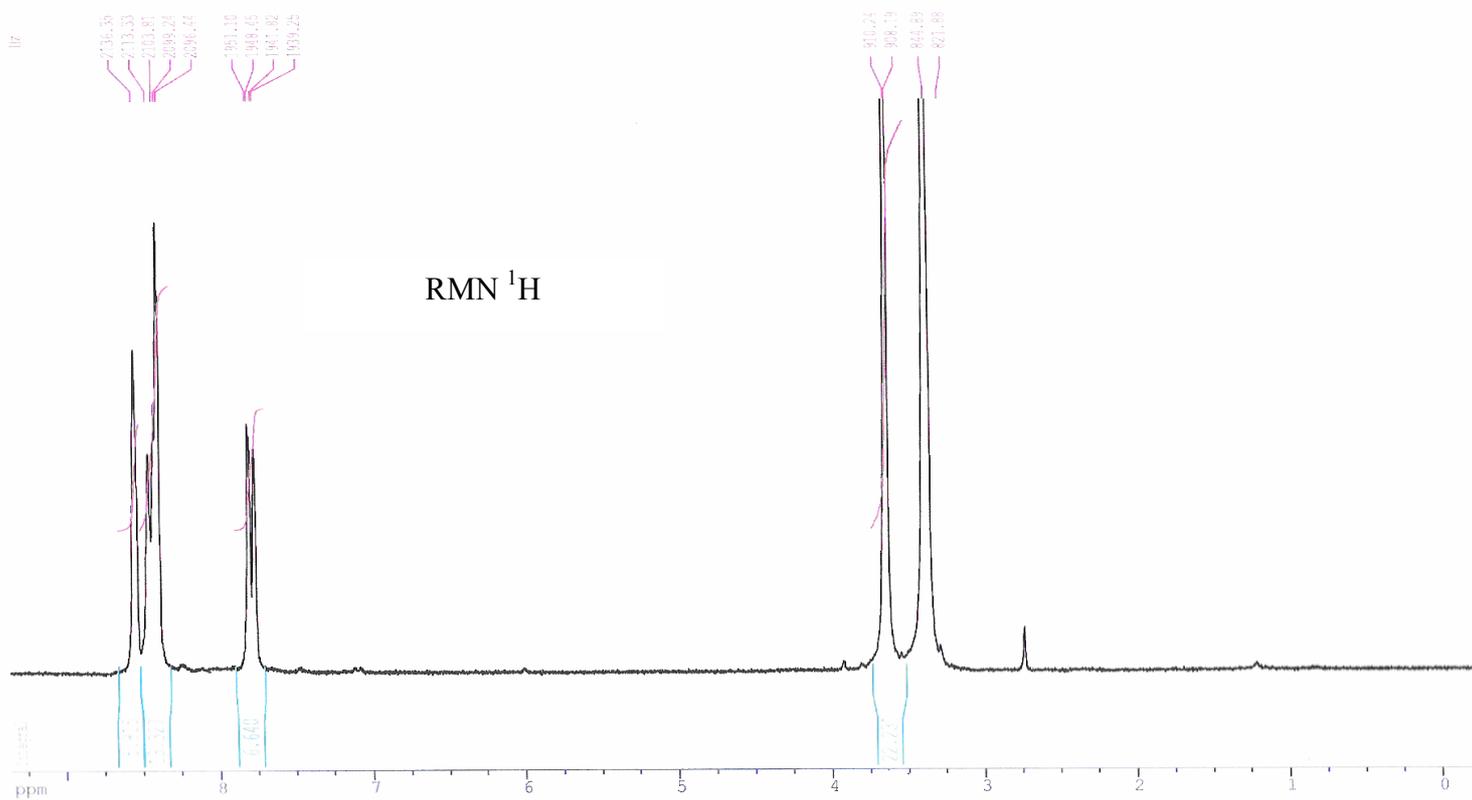
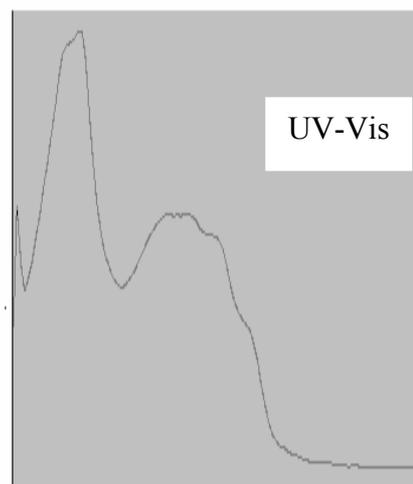
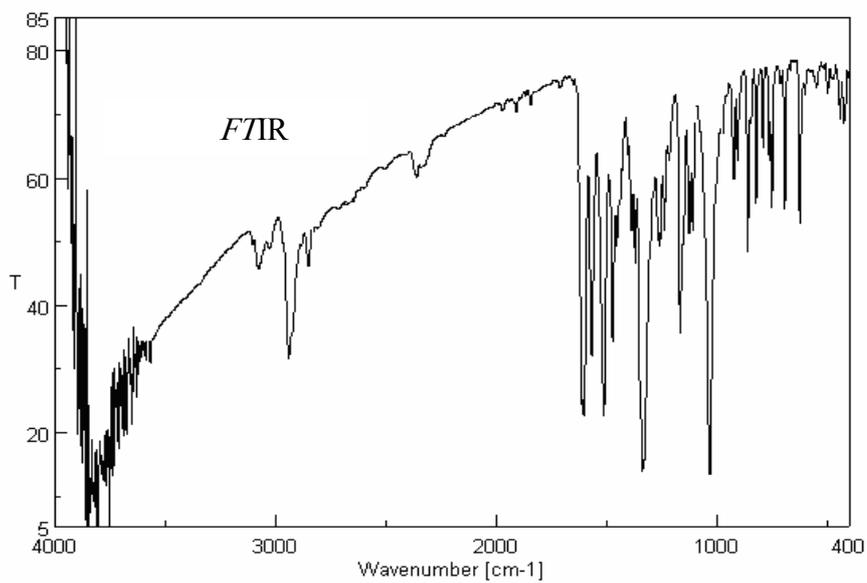
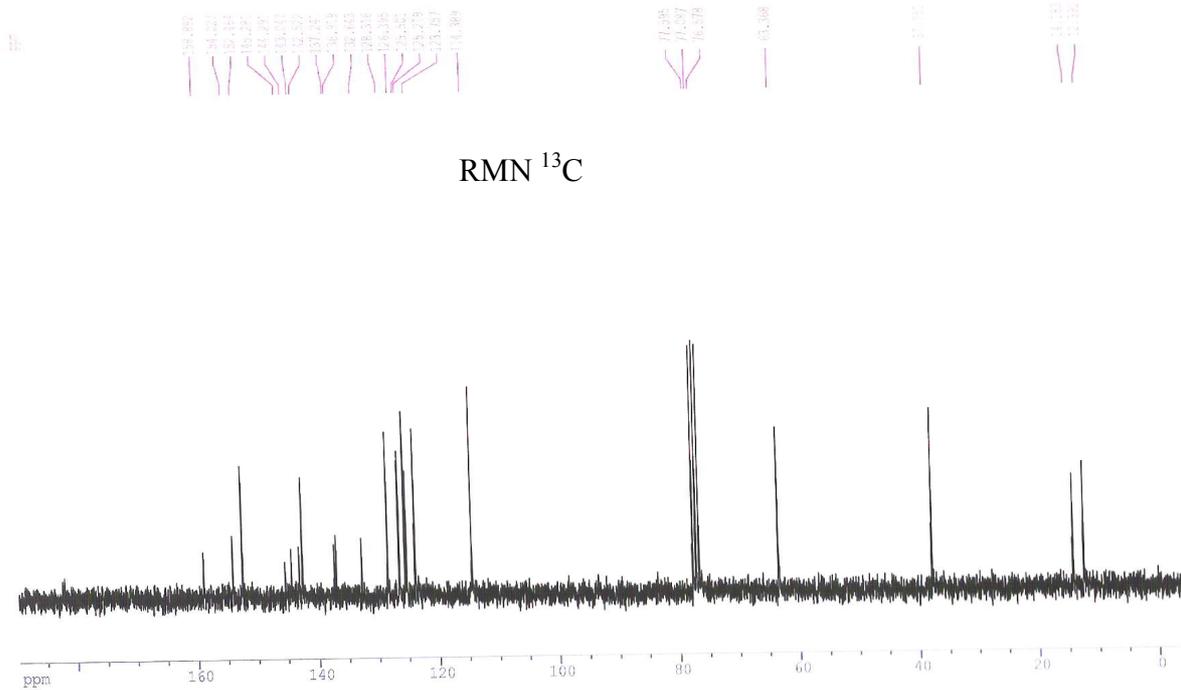
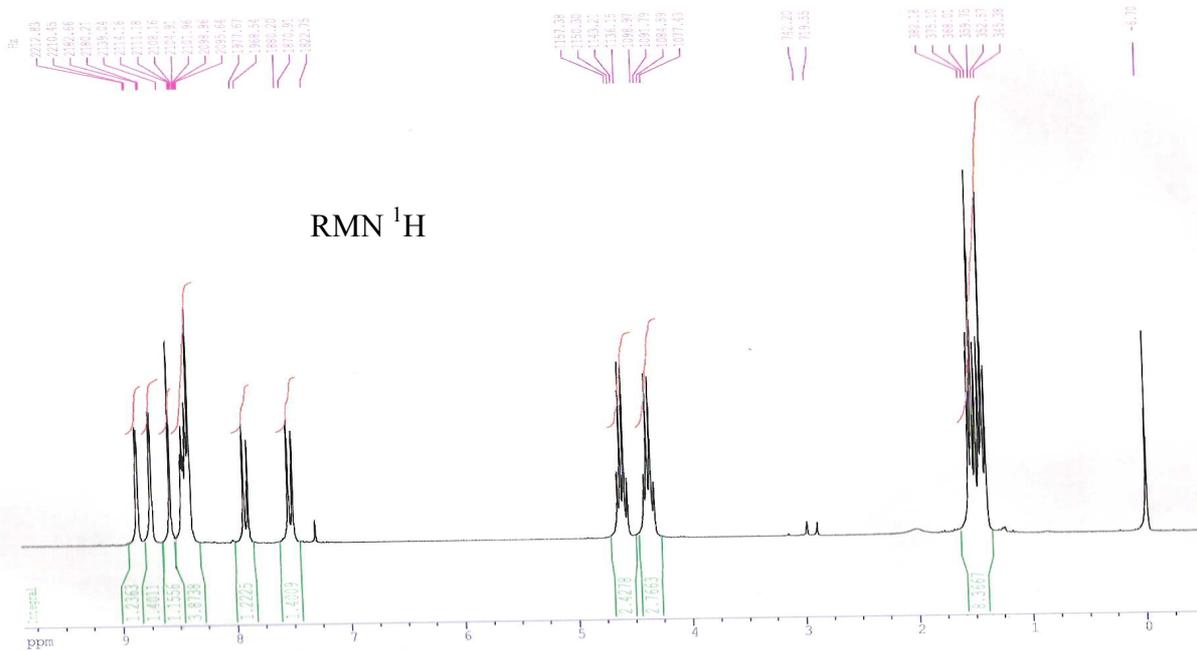


Fig.10 : Spectres UV-Vis, FTIR et RMN ^1H de la 2-méthoxy-6-nitroquinoxaline (**2b**).

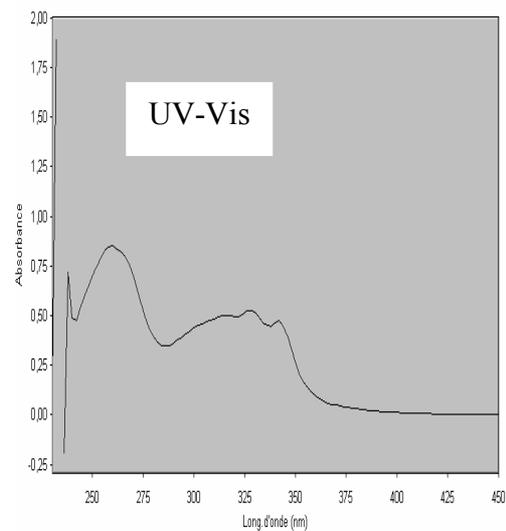
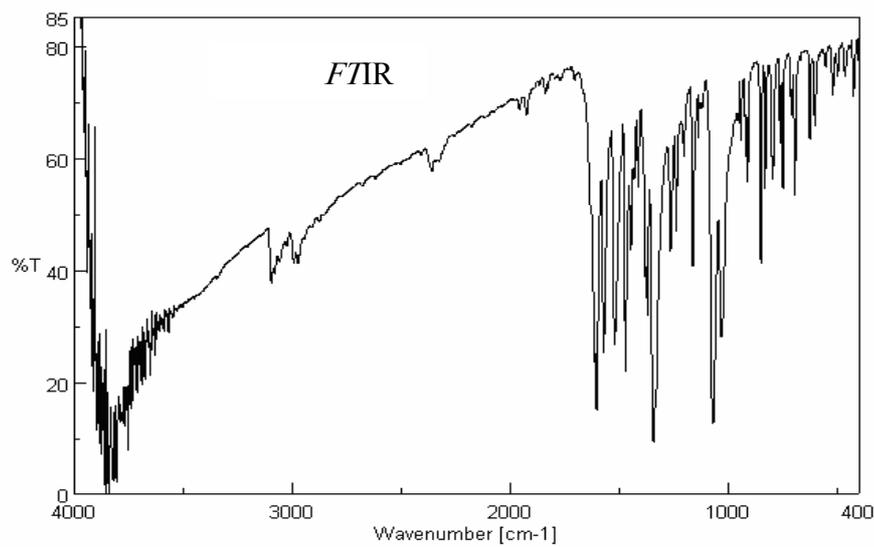


RMN ¹³C

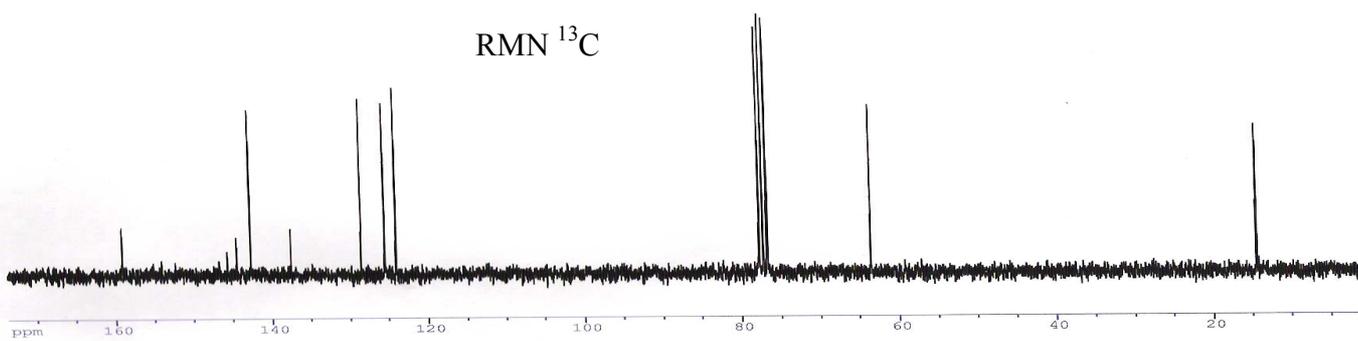


RMN ¹H

Fig.11 : Spectres RMN ¹³C et RMN ¹H de la N- et O-éthyl-6-nitroquinolin-2-ol.



RMN ¹³C



RMN ¹H

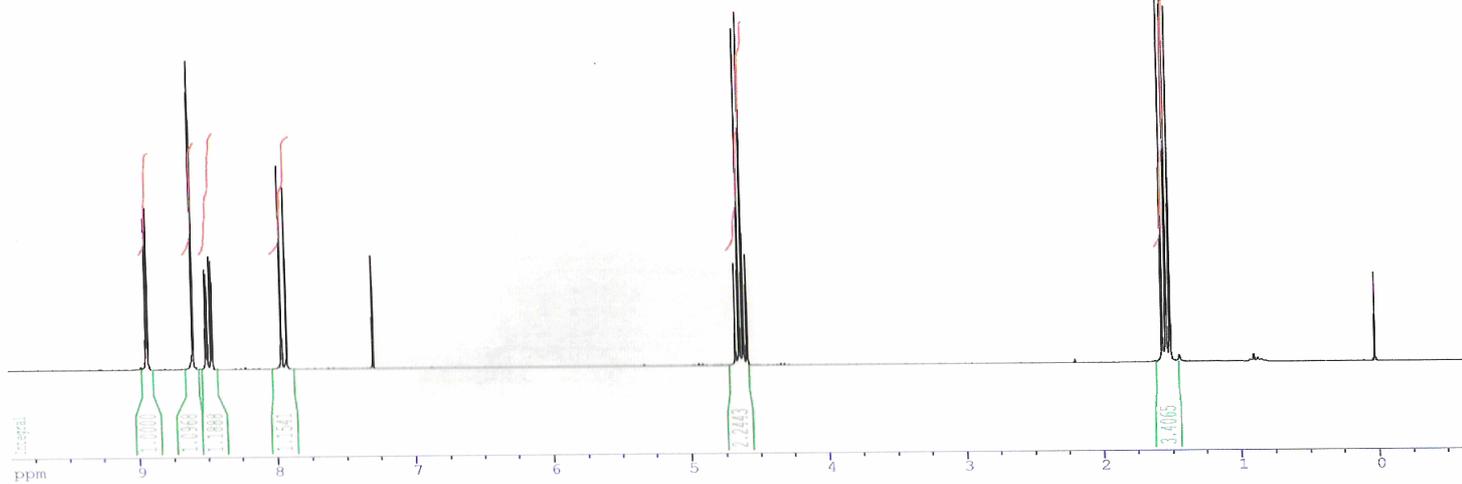


Fig.12 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la 2-Ethoxy-6-nitroquinoxaline (3b).

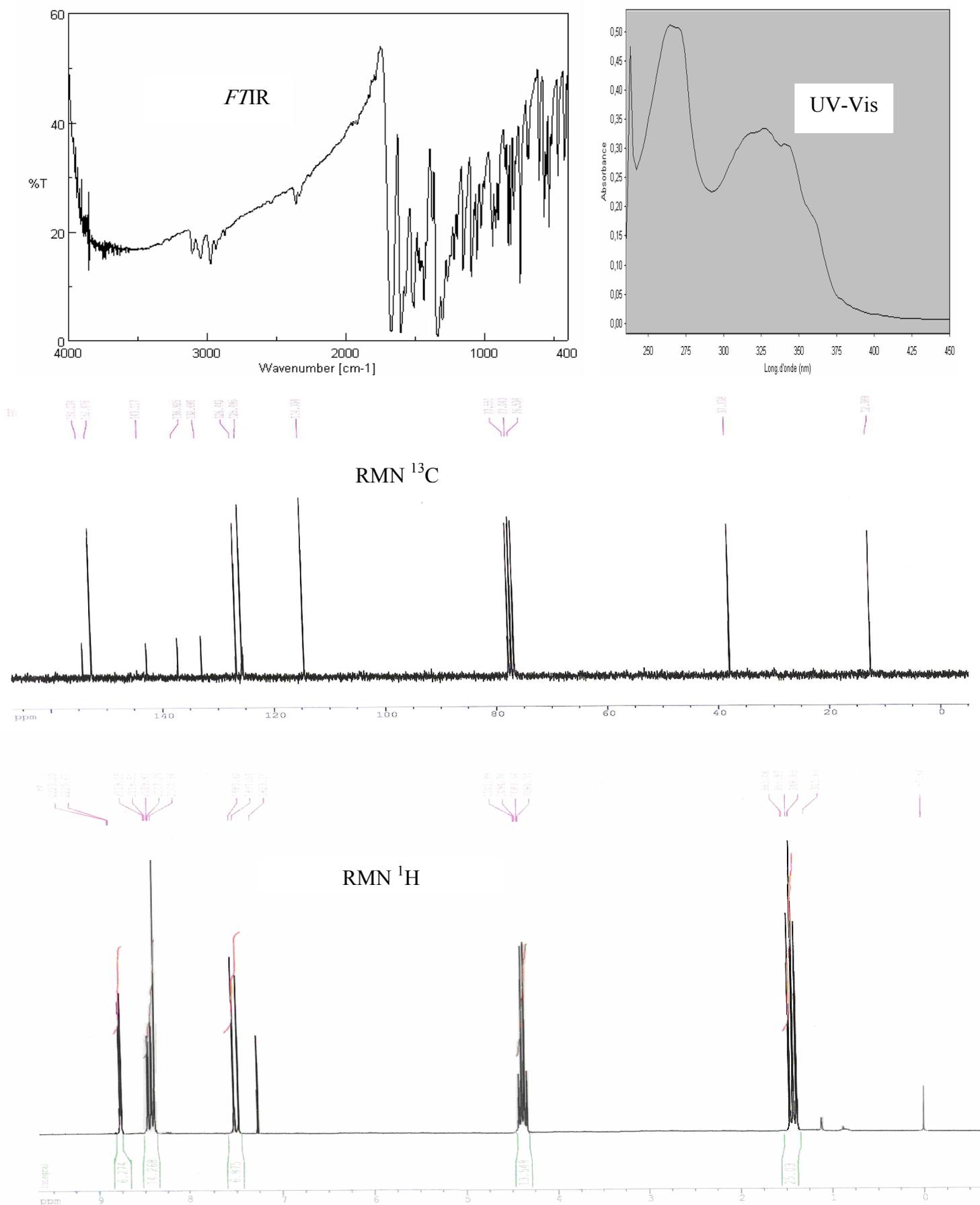


Fig.13 : Spectres UV-Vis, FTIR, RMN ¹³C et ¹H de la 1-Ethyl-6-nitro-quinoxalin-2-one (4b).

Résumé :

La chimie hétérocyclique a connu un essor prodigieux grâce à l'intérêt que présentent les composés hétérocycliques sur le plan théorique et pratique. Cet intérêt est encore stimulé par la mise en évidence des activités pharmacologiques variées que présentent une grande majorité de ces composés.

De nombreuses séries hétérocycliques utilisant les benzopyrazines et les benzopyrimidines comme matière première ont été synthétisées dans notre laboratoire. Ces stratégies de synthèse ont été étendues récemment aux réactions de nitration de ces produits qui sont maintenant bien connus pour leurs propriétés antibactériennes.

Pour notre part, l'objectif que nous nous étions fixés était d'accéder par des méthodes de synthèse efficace et peu coûteuse à des composés hétérocycliques de structure quinoxalinique et quinazolinique diversement substitués dont la structure a été déterminée par analyse en IR, RMN¹H et RMN¹³C. Une discussion sur la possibilité des réactions de substitution électrophile et nucléophile a été réalisée sur la base des données spectrales et théoriques.

Afin de disposer d'une bio-activité et d'une relation structure-activité aussi large que possible, une étude antibactérienne comparative des produits préparés avec celle d'antibiotiques issus de la synthèse a été entreprise sur des micro-organismes .

Mots Clés :

Synthèse chimique, hétérocycle, benzopyrazines, benzopyrimidines, composés bicycliques, nitration, alkylation, activité antibactérienne, antibiotique.

Abstract:

Various benzopyrazine and benzopyrimidine derivatives were synthesized using nitration and alkylation reactions on respectively quinazolin-4-ol and quinoxalin-2-ol heterocyclic. Classical alkylation method proved to be a good synthesis way for benzopyrimidine compounds. On the contrary, it is not that use ful for benzopyrazine ones.

The purity and the structure of the compounds obtained were checked using TLC, UV-VIS FTIR and NMR (¹H, ¹³C) analysis.

The products were tested in vitro against Ampicillin sensitive strains to evaluate their antibacterial activity. Some of the compounds tested have shown high inhibition activity of bacteria growth and are seen as potent agents in antibiotic domain research.

Key words:

Synthesis, heterocyclic, nitration, alkylation, antibiotic, antibacterial activity.