

Chapitre III : Evaluation biologique

I- Généralités sur l'activité antibactérienne

1- Structure

Les quinolones ont une structure générale dérivant de l'acide dihydro-1,4-oxo-4-quinoleine carboxylique. La première molécule des quinolones est Negram® (acide nalidixique). Depuis, plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques [52]. Schématiquement on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes :

- Les quinolones de première génération
- Les quinolones de deuxième génération

• ***Les quinolones de première génération appelés aussi les quinolones classiques (urinaires).*** On retrouve dans ce groupe :

- L'acide nalidixique : Negram®
- L'acide oxolinique : Urotrate®
- L'acide pipemidique : Pipram®
- L'acide piromidique : Purim®
- Rosoxacine : Eracine®
- Fluméquine : Apurone®

• ***Les quinolones de deuxième génération.***

On retrouve dans le groupe les fluoroquinolones :

- Levofloxacin
- Lémofloxacin
- Péfloxacin : Peflacin®
- Norfloxacin : Noroxine®
- Sparfloxacin : Zagam®
- Ofloxacin : Oflocet®
- Ciprofloxacin : Ciflox®

- Enoxacine

2- Mode d'action

Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien.

3- Spectre d'activité

Les quinolones de 1ère génération ont à peu près le même spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif excepté *Pseudomonas* spp. Les fluoroquinolones ont un spectre élargi, on retrouve les bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif dont l'activité est 100 à 1000 fois plus élevée que celles des quinolones de 1ère génération (sauf streptocoques et pneumocoques).

L'ofloxacin et la Ciprofloxacine ont une activité sur *Mycobacterium tuberculosis*.

Les fluoroquinolones sélectionnent assez facilement des mutants résistants. Ce phénomène est particulièrement net pour les staphylococcus et pour le *Pseudomonas* spp. Il est recommandé d'utiliser une association pour prévenir l'émergence de ces résistances sur les espèces inconstamment sensibles telles que *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Enterobacter* et *Klebsielle*. Les différents antibiotiques proposés en association sont les aminosides, les β lactamines et la fosfomycine.

II- Etude de l'activité antibactérienne

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne des dérivés de l'acide 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylique. Les tests ont été faits au Laboratoire de biotechnologie microbienne à la faculté des sciences et techniques de Fès.

Matériels et méthodes

1- Matériels

a) Souches bactériennes

Nous avons utilisé cinq souches sensibles dont trois sont à gram positif et deux à gram négatif.

Bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*.

Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*.

b) Composés testés

Ce sont des dérivés de l'acide 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylique.

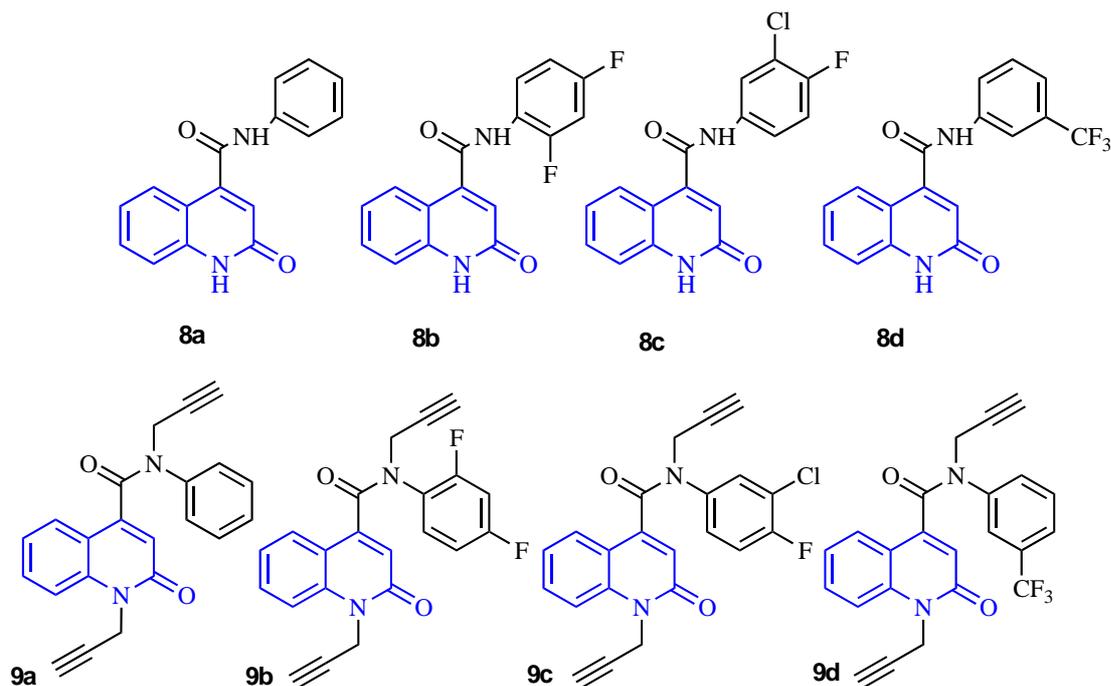


Figure 31 : Composés testés biologiquement

2- Méthodes

a) Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la CMI a été effectuée dans une microplaque à 96 puits en utilisant le dosage de micro-dilution selon le protocole décrit précédemment par Bouhdid et al ^[53] avec de légères modifications. Tout d'abord, le produit a été dilué en série dans du DMSO, utilisé comme émulsifiant. Ensuite, 50 μL d'inoculum bactérien ont été ajoutés à chaque puits à une concentration finale de 10^6 CFU / mL. Le 12^{ème} puits a été considéré comme un contrôle de la croissance. Après incubation à 37°C pendant 18-20 heures, 10 μL de résazurine ont été ajoutés à chaque puits en tant qu'indicateur de croissance bactérienne ^[54]. Après une nouvelle incubation à 37 ° C pendant 2 h, la croissance bactérienne a été révélée par la coloration de la résazurine passant du violet au rose. La valeur du CMI a été déterminée comme la plus faible concentration qui a empêché un changement de la couleur de la résazurine. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

b) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La valeur CMB correspond à la plus faible concentration du produit produisant des sous-cultures négatives après incubation à 37°C pendant 24h. Il a été déterminé par l'épandage de 5 μL des puits négatifs sur les plaques Luria Bertani (LB). Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

3- Résultats et discussions

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Résultats expérimentaux des produits testés

Produits \ Souches	Concentration Minimale Inhibitrice/Bactéricide (CMI=CMB)				
	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
8a	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	0.31 mg/ml
8b	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml
8c	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml
8d	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml
9a	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	0.15 mg/ml
9b	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	0.62 mg/ml
9c	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	0.15 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml
9d	2.5 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	0.62 mg/ml

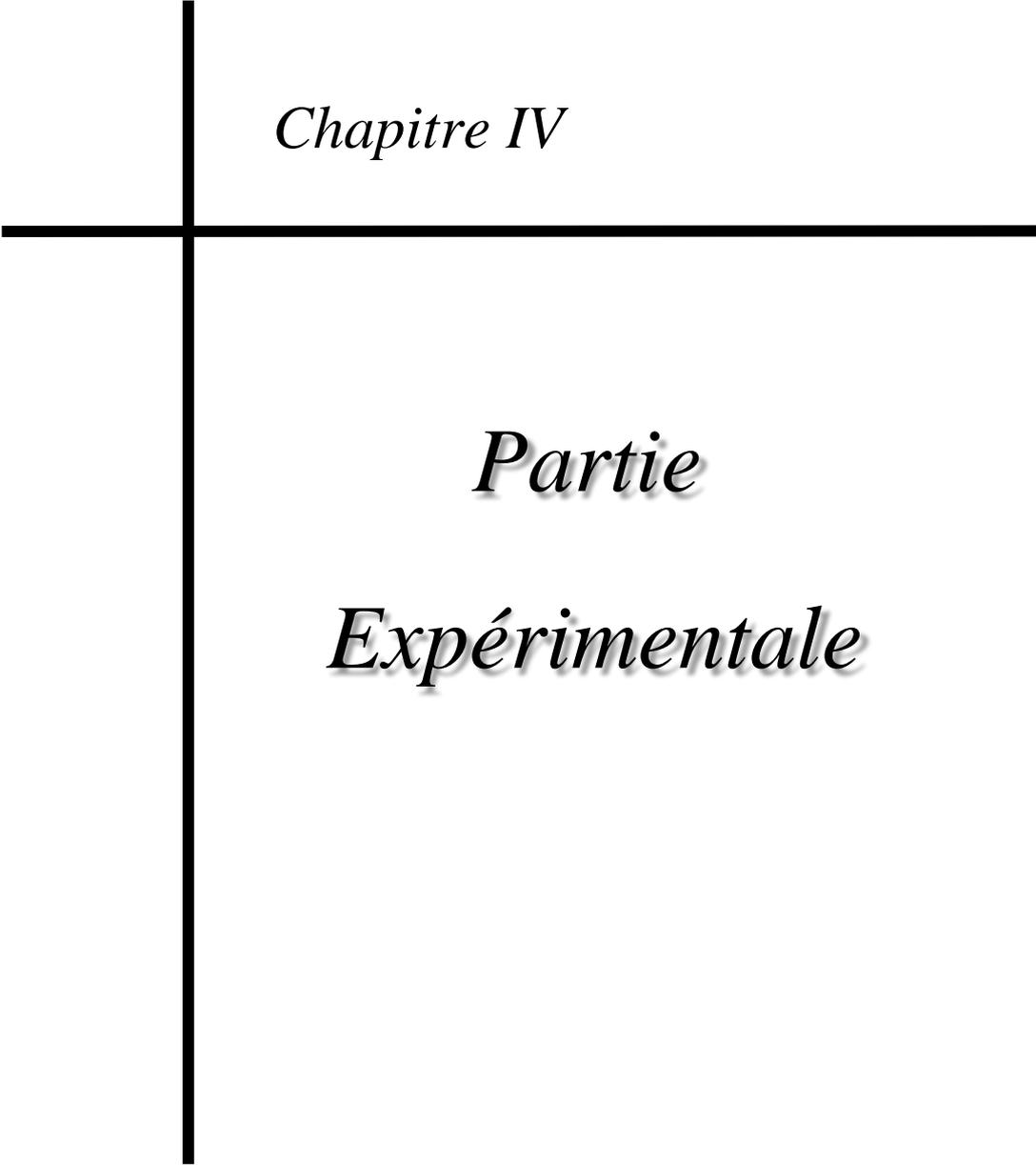
L'activité antibactérienne testée in vitro par procédé de microdilution a montré que les composés testés présentaient un effet antibactérien contre toutes les souches testées. On peut noter que cet effet inhibiteur dépend de la souche cible étudiée.

Escherichia coli a montré une grande sensibilité au composé **8a**, elle a été inhibée par une faible concentration de 0,31 mg/ml. Les composés **9a,9b** et **9d** étaient très efficaces contre les bactéries Gram négatif et plus particulièrement sur E. coli. D'autre part, le composé **9c** a exercé un effet antibactérien puissant sur B. cereus avec une CMI de 0,15 mg/ml.

La résistance intrinsèque des bactéries Gram négatif est due à la structure de leur paroi cellulaire qui se caractérise par la présence de lipopolysaccharides (75%) ayant un caractère hydrophile qui rend la membrane externe de ces bactéries imperméable à la plupart des molécules hydrophobes.

En effet, les résultats de CMI et CMB sont proches ou égaux, ce qui signifie que les composés éliminent presque immédiatement les souches = bactéricides.

Plusieurs commentaires peuvent être faits pour discuter les résultats obtenus des dérivés de l'acide 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylique. Dans la première série, seul le composé **8a** a montré un effet inhibiteur par une très faible concentration de CMI. Contrairement à la deuxième série, la di-alkylation par le groupement propargyl a diminué la CMI des composés **9a-9d** sur certaines souches (E.coli /B.cereus) et les a rendus plus actifs et plus efficaces par rapport à la première série.



Chapitre IV

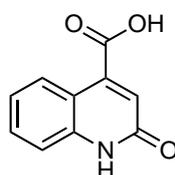
Partie

Expérimentale

Chapitre VI : partie expérimentale

A une solution de 10 mmoles d'isatine et 10 mmoles de l'acide malonique dans 30 ml d'acide acétique, on ajoute 1 mmole d'acétate de sodium. Le mélange est porté à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement 100 ml d'eau glacée sont ajoutés. Le précipité obtenu et lavé plusieurs fois avec l'éthanol.

Composé 45a : l'acide 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4- carboxylique.



45a

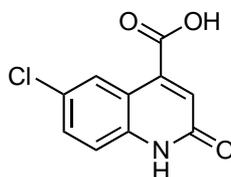
Formule chimique : $C_{10}H_7NO_3$

Masse Moléculaire : 189.17 g. mole⁻¹

Rf = 0 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 90 %; Pf: >280 °C; RMN¹H (300 MHz, DMSO): 6.86 (s, 1H, CH); 7.2-8.16 (m, 4H, CH_{arom}); 12.17 (s, 1H, NH); 13.9 (s, 1 H, OH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 167.2 (COOH), 163. (C=O), 141.7-139.8 (Cq, Cq), 131.3 (CH_{arom}), 126.5 (CH_{arom}), 123.8 (CH), 122.6 (Cq), 116.2 (CH_{arom}). Spectre de masse (DIC / NH₃) : m/z = 189 [MH]⁺.

Composé 45b : l'acide-6-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylique.



45b

Formule chimique : $C_{10}H_6ClNO_3$

Masse Moléculaire : 223.61 g. mole⁻¹

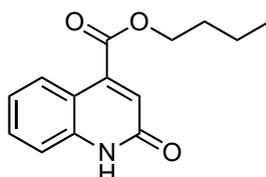
Rf = 0 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 87 % ; Pf : >280 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO) : 6.91 (s, 1H, CH) ; 7.32 (d, 1H, ³J_{H-H} = 9 Hz, (CH_{arom}) ; 7.72 (d, 1H, ³J_{H-H} = 9 Hz, CH_{arom}); 8.22 (d, 1H, ⁴J_{H-H} = 1.8Hz, CH); 12.22 (s, 1H, , NH) ; 14.05 (s, 1 H, OH). RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 166.69 (COOH),

161.24 (C=O), 139.64-138.7 (Cq, Cq), 131.14 (CH_{arom}), 126.7 (CH_{arom}), 126.07 (CH), 125.77 (CH_{arom}), 118.08 (Cq), 117.42 (CH_{arom}). Spectre de masse (DIC / NH₃) : m/z = 223.5 [MH]⁺.

A une solution des composés 45a-45b (2g, 10.0 mmol) et 20 ml d'alcool absolu, on a ajouté 1 ml d'acide sulfurique (catalyseur). Le mélange réactionnel a été maintenu pendant une nuit au reflux. Le composé pur a été obtenu par précipitation dans H₂O.

Composé 46a : 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate de butyle



46a

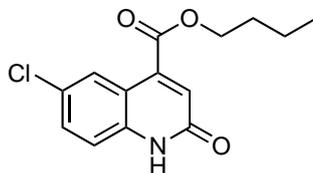
Formule chimique : C₁₄H₁₅NO₃

Masse Moléculaire : 245.28 g. mole⁻¹

Rf = 0.75 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 95 %; Pf >250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 0.92 (t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃); 1.40 (m, 2H, CH₂); 1.70 (m, 2H, CH₂); 4.34 (t, 2H, ³J_{H-H} = 6.6 Hz, CH₂); 6.88 (s, 1H, CH); 7.22 (td, 1H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, CH_{arom}), 7.38 (d, 1H, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, CH_{arom}); 7.55 (td, 1H, ³J_{H-H} = 8.3 Hz ⁴J_{H-H} = 1.2 Hz, CH_{arom}); 8.05 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz ⁴J_{H-H} = 0.9 Hz, CH_{arom}); 12.11 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.50 (COOH), 161.26 (C=O), 140.56-139.90 (Cq-Cq), 131.49 (CH_{arom}), 126.23 (CH_{arom}), 124.30 (CH_{arom}) 122.80 (CH), 116.33 (CH_{arom}), 115.94 (Cq), 65.92 (CH₂), 30.43(CH₂), 19.15(CH), 13.98 (CH₃).

Composé 46b : 6-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate de butyle



46b

Formule chimique : C₁₄H₁₄ClNO₃

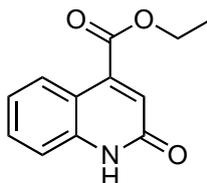
Masse Moléculaire : 279.72 g. mole⁻¹

Rf = 0.66 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt(%) = 97 %; Pf >250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 0.93 (t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃); 1.43 (m, 2H, CH₂); 1.73 (m, 2H, CH₂); 4.34 (t, 2H, ³J_{H-H} = 6.3 Hz, CH₂); 6.97 (s, 1H, CH);

7.35 (d, 1H, $^3J_{H-H} = 8.7$ Hz, CH_{arom}); 7.59 (dd, 1H, $^3J_{H-H} = 8.7$ Hz $^4J_{H-H} = 1.8$ Hz, CH_{arom}); 8.15 (d, $^4J_{H-H} = 1.8$ Hz, CH_{arom}); 12.21 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.91 (COOH), 160.98 (C=O), 138.70 (2 Cq), 131.30 (CH_{arom}), 126.81 (Cq), 126.28 (CH_{arom}), 125.49 (CH_{arom}) 118.15 (CH_{arom}), 117.03 (CH_{arom}), 66.07 (CH₂), 30.00(CH₂), 19.18(CH), 13.97 (CH₃)

Composé 47a : 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'éthyle éthylique



47a

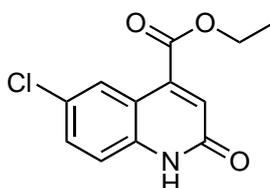
Formule chimique : C₁₂H₁₁NO₃

Masse Moléculaire : 217.22 g. mole⁻¹

Rf = 0.58 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 97 %; Pf >250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 1.35 (t, 3H, $^3J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH₃); 4.4 (q, 2H, $^3J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH₂); 6.89 (s, 1H, CH); 7.24 (m, 1H, CH_{arom}), 7.39 (d, 1H, $^3J_{H-H} = 7.8$ Hz, CH_{arom}); 7.6 (m, 1H, CH_{arom}); 8.04 (m, 1H, CH_{arom}); 12.14 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.51 (COOH), 161.27 (C=O), 140.67-139.87 (Cq-Cq), 131.55 (CH_{arom}), 126.26 (CH_{arom}), 124.28 (CH_{arom}) 122.85 (CH), 116.32 (CH_{arom}), 115.89 (Cq), 62.36(CH₂), 14.38(CH₃).

Composé 47b : 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'éthyle éthylique



47b

Formule chimique : C₁₂H₁₁ClNO₃

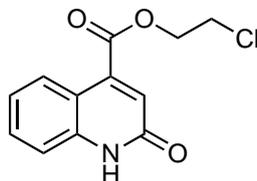
Masse Moléculaire : 251.67 g. mole⁻¹

Rf = 0.63 hexane / acétate d'éthyle (1/1).

Rdt (%) = 95 %; Pf > 250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 1.35 (t, 3H, $^3J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH₃); 4.39 (q, 2H, $^3J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH₂); 7.0 (s, 1H, CH); 7.39 (d, 1H, $^3J_{H-H} = 8.7$ Hz, CH_{arom}); 7.61 (dd, 1H, $^3J_{H-H} = 8.7$ Hz, $^4J_{H-H} = 1.8$ Hz, CH_{arom}); 8.17 (d, 1H, $^3J_{H-H} = 1.8$ Hz, CH_{arom}); 12.14

(s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 164.93 (COOH), 161.02 (C=O), 138.85-138.72 (Cq-Cq), 131.38 (CH_{arom}), 126.81 (Cq), 126.23 (CH_{arom}) 125.51 (CH), 118.18 (CH_{arom}), 117.06 (Cq), 62.50(CH₂), 14.33(CH₃).

Composé 48a : 2-chloroéthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate de méthyle



48a

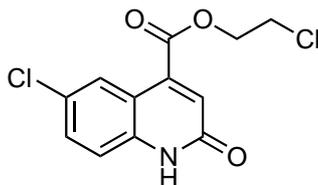
Formule chimique : C₁₂H₁₀ClNO₃

Masse Moléculaire : 251.67 g. mole⁻¹

Rf = 0.32 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 91 %; Pf > 250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 3.88 (t, 2H, ³J_{H-H} = 5.4 Hz, CH₂); 4.61 (t, 2H, ³J_{H-H} = 5.4 Hz, CH₂); 7.33 (m, 2H, CH_{arom}); 7.44 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, CH_{arom}); 7.59 (t, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 8.39 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 11.95 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 167.32 (COOH), 161.03 (C=O), 140.01-139.63 (Cq-Cq), 131.38 (CH_{arom}), 126.52 (CH_{arom}), 124.79 (CH_{arom}), 123.57 (CH_{arom}), 116.37 (CH_{arom}), 115.02 (Cq), 64.86 (CH₂), 41.34(CH₂).

Composé 48b : 2-chloroéthyle 6-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate



48b

Formule chimique : C₁₂H₉Cl₂NO₃

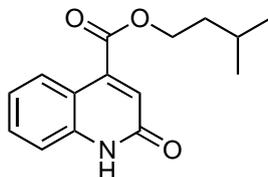
Masse Moléculaire : 286.11 g. mole⁻¹

Rf = 0.52 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 90 %; Pf > 250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 4.02 (t, 2H, ³J_{H-H} = 5.1 Hz, CH₂); 4.61 (t, 2H, ³J_{H-H} = 5.1 Hz, CH₂); 7.03 (s, 1H, CH_{arom}); 7.36 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, CH_{arom}); 7.61 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz CH_{arom}); 8.20 (d, 1H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH_{arom}); 12.21 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 164.61 (COOH), 160.93 (C=O), 138.70-

138.40 (Cq-Cq), 131.46 (CH_{arom}), 126.90 (CH_{arom}), 126.62 (Cq), 125.56 (CH_{arom}), 118.18 (CH_{arom}), 116.87 (Cq), 66.18 (CH₂), 42.91(CH₂).

Composé 49a : 2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'isopentyle



49a

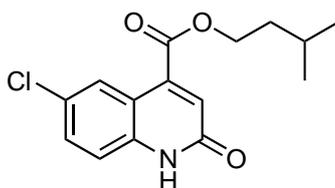
Formule chimique : C₁₅H₁₇NO₃

Masse Moléculaire : 259.31 g. mole⁻¹

Rf = 0.66 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 90 %; Pf > 250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 0.91 (d, 6H, ³J_{H-H} = 6 Hz, 2 CH₃); 1.64 (m, 3H, CH, CH₂); 4.36 (t, 2H, ³J_{H-H} = 6.3 Hz, CH₂); 6.83 (s, 1H, CH); 7.23 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.5 Hz, CH_{arom}), 7.38 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 7.56 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.5 Hz, CH_{arom}); 8.04 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 12.14 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.49 (COOH), 161.38 (C=O), 140.68-139.78 (Cq-Cq), 131.60 (CH_{arom}), 126.23 (CH_{arom}), 124.12 (CH_{arom}) 122.94 (CH), 116.37 (CH_{arom}), 115.92 (Cq), 64.77 (CH₂), 37.01(CH₂), 25.12(CH), 22.10(2 CH₃).

Composé 49b : 6-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'isopentyle



49b

Formule chimique : C₁₅H₁₆ClNO₃

Masse Moléculaire : 293.75 g. mole⁻¹

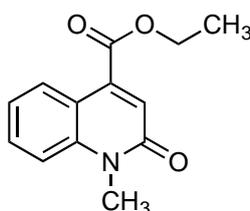
Rf = 0.70 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 93 %; Pf > 250 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 0.92 (d, 6H, ³J_{H-H} = 6 Hz, 2 CH₃); 1.63 (m, 3H, CH₂); 1.74 (m, 3H, CH); 4.35 (t, 2H, ³J_{H-H} = 6.6 Hz, CH₂); 6.95 (s, 1H, CH_{arom}); 7.35 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, CH_{arom}); 7.56 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH_{arom}); 8.13 (d, 1H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH_{arom}); 12.21 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 164.87 (COOH), 161.03 (C=O), 138.69-138.63 (Cq-Cq), 131.29 (CH_{arom}), 126.86 (CH_{arom}),

126.22 (CH_{arom}), 125.47 (CH_{arom}), 118.15 (CH_{arom}), 117.02 (Cq), 64.86 (CH₂), 37.00(CH₂), 25.14(CH), 22.68 (2 CH₃).

Composé 50a : 1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'éthyle

Une solution du composé 47a (0.5 g 2.3 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.17 ml, 2.3 mmoles) de l'iodure de méthyle, (0.95g, 6.9 mmoles) de K₂CO₃ et (0.06 g, 0.23 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).



50a

Formule chimique : C₁₃H₁₃NO₃

Masse Moléculaire : 231.25g. mole⁻¹

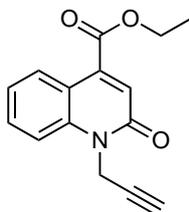
Rf = 0.25 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 85 % ; Pf: 133.6 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.44(t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃); 3.77 (s, 3H, CH₃); 4.46 (q, 2H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₂); 7.22 (s, 1H,CH); 7.31 (td, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 0.9 Hz, CH_{arom}), 7.42 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 7.63 (td, 1H, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, CH_{arom}); 8.38 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.4Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 165.46 (COOH), 161.40 (C=O), 140.40-138.85 (Cq, Cq), 131.13 (CH_{arom}), 127.21 (CH_{arom}), 124.22 (CH_{arom}) 122.68 (CH_{arom}), 117.65(Cq), 114.48 (CH_{arom}), 62.01 (CH₂), 29.79(CH₃) , 14.16(CH₃).

Composé 50b : 2-oxo-1- (prop-2-yn-1-yl) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate d'éthyle

Une solution du composé 47a (0.5 g 2.3 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.2 ml, 2.77 mmoles) de bromure de propargyle, (0.9 g, 6.9 mmoles) de K₂CO₃ et (0.06 g, 0.23 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du

DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).



50b

Formule chimique : C₁₅H₁₃NO₃

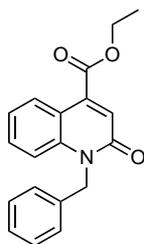
Masse Moléculaire : 255.27 g. mole⁻¹

Rf = 0.42 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt(%) = 87 % ; Pf: 125.4 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.44(t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃) 2.88 (t, 1H, ³J_{H-H} = 2.4Hz, ≡CH); 4.48 (q, 2H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₂-O); 5.14(d, 2H, ³J_{H-H} = 2.4 Hz CH₂-N); 7.21 (s, 1H,CH); 7.34 (m, 1H, CH_{arom}), 7.6 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 7.68 (m, 1H, CH_{arom}); 8.38 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 9.3Hz, ⁴J_{H-H} = 1.2Hz CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 165.15 (COOH), 160.50 (C=O), 139.68-139.01 (Cq, Cq), 131.28 (CH_{arom}), 127.38 (CH_{arom}), 123.79 (CH_{arom}) 123.09 (CH), 117.78 (Cq), 115.01 (CH_{arom}), 72.76 (C≡CH), 62.13 (CH₂), 31.92(CH₂) , 14.15(CH₃).

Composé 50c : Éthyl 1-benzyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxylate

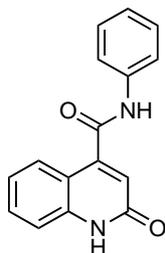
Une solution du composé 47a (0.5 g 2.3 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.31 ml, 2.7 mmoles) de chlorure de benzyle, (0.95g, 6.9 mmoles) de K₂CO₃ et (0.06 g, 0.23 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).

**50c****Formule chimique** : C₁₉H₁₇NO₃**Masse Moléculaire** : 307.35 g. mole⁻¹**Rf** = 0.92 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 83 %; Pf: 116.8 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.46 (t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃); 4.49 (q, 2H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₂); 5.60 (s, 2H, CH₂); 7.21-7.35 (m, 8H, CH_{arom}), 7.48 (td, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, CH_{arom}); 8.35 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 164.59 (COOH), 161.71 (C=O), 139.67-135.84 (Cq-Cq), 131.13 (CH_{arom}), 128.88 (2CH_{arom}), 127.42 (CH_{arom}), 127.21 (CH_{arom}), 126.51 (2CH_{arom}), 123.99 (CH_{arom}), 123.36 (Cq), 122.75 (CH_{arom}), 115.43 (CH_{arom}), 115.36 (Cq), 62.36(CH₂), 46.24(CH₂), 14.18(CH₃).

Composé 51a : 2-oxo-N-phényl-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Sur (1 g, 5.29 mmol) du produit 45a on ajoute 10 ml du chlorure de thionyle et le mélange est porté à reflux pendant 2 h. L'excès de chlorure de thionyle a été éliminé, puis ce produit a été utilisé immédiatement pour l'étape suivante sans aucune purification. Ensuite on a ajouté au chlorure d'acyle (0.44 g, 4.83 mmol) aniline dans 10 ml du chloroforme à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été laissé à température ambiante pendant 2 heures. Le mélange est purifié par recristallisation (DMSO /H₂O).

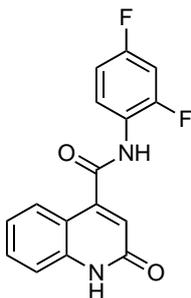
**51a****Formule chimique** : C₁₆H₁₂N₂O₂**Masse Moléculaire** : 264.28 g. mole⁻¹

Rf = 0.08 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 92 %; Pf >300 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 6.93 (s, 1H, CH_{arom}); 7.15 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH_{arom}); 7.22 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH_{arom}); 7.38 (m, 3H, CH_{arom}); 7.56 (td, 1H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.1 Hz, CH_{arom}); 7.73 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, CH_{arom}) 10.74 (s, 1H, NH); 12.02 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 164.77 (COOH), 161.82 (C=O), 146.48 (Cq), 139.68-138.93 (Cq-Cq), 131.49 (CH_{arom}), 129.31 (2 CH_{arom}), 126.17 (CH_{arom}), 124.76 (CH_{arom}), 122.79 (CH_{arom}), 120.48 (2 CH_{arom}), 120.33 (CH_{arom}), 116.47 (Cq), 116.24 (CH_{arom}).

Composé 51b : N- (2,4-difluorophényl) -2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Sur (1 g, 5,29 mmol) du produit 45a on ajoute 10 ml du chlorure de thionyle et le mélange est porté à reflux pendant 2 h. L'excès de chlorure de thionyle a été éliminé, puis ce produit a été utilisé immédiatement pour l'étape suivante sans aucune purification. Ensuite on a ajouté au chlorure d'acyle (0.62 g, 4,83 mmol) de 2,4-difluoroaniline dans 10 ml du chloroforme à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été laissé à température ambiante pendant 2 heure. Le mélange est purifié par recristallisation (DMSO /H₂O).



51b

Formule chimique : C₁₆H₁₀F₂N₂O₂

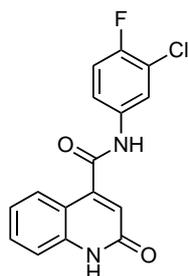
Masse Moléculaire : 300.00 g. mole⁻¹

Rf = 0.1 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 95 %; Pf >330 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 6.72 (s, 1H, CH_{arom}); 7.13-7.26 (m, 2H, CH_{arom}); 7.36-7.44 (m, 2H, CH_{arom}); 7.54-7.6 (m, 1H, CH_{arom}); 7.74-7.82 (m, 1H, CH_{arom}) 10.57 (s, 1H, NH); 12.02 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.22 (COOH), 161.61 (C=O), 160.23 (dd, Cq, ¹J_{C-F} = 243.75 Hz, ³J_{C-F} = 11.25 Hz), 156 (dd, Cq, ¹J_{C-F} = 248.25 Hz, ³J_{C-F} = 12.75 Hz), 145.88 (Cq) 139.75 (Cq), 131.47 (CH_{arom}), 128.3 (dd, CH_{arom}, ⁴J = 9.9 Hz, ⁴J = 2.85 Hz) 126.13 (CH_{arom}), 122.69 (CH_{arom}), 121.85 (dd, CH_{arom}, ²J = 12.67 Hz, ⁴J = 4.5 Hz), 120.8 (CH_{arom}) 116,45 (Cq), 116,22 (CH_{arom}), 111.8 (dd, CH_{arom}, ²J = 22.5 Hz, ⁴J = 3.75 Hz), 104.97 (dd, CH_{arom}, ²J = 24 Hz, ²J = 24 Hz) RMN¹⁹F (282 MHz, DMSO) : δ = -112.69 (d, 1F, ³J = 6,2 Hz), δ = -116.70 ppm (d, 1F, ³J = 6,2 Hz).

Composé 51c : N- (3-chloro-4-fluorophényl) -2-oxo-1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Sur (1 g, 5,29 mmol) du produit 45a on ajoute 10 ml du chlorure de thionyle et le mélange est porté à reflux pendant 2 h. L'excès de chlorure de thionyle a été éliminé, puis ce produit a été utilisé immédiatement pour l'étape suivante sans aucune purification. Ensuite on a ajouté au chlorure d'acyle (0.7 g, 4,83 mmol) de 3-chloro-4-fluoroaniline dans 10 ml du chloroforme à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été laissé à température ambiante pendant 2 heures. Le mélange est purifié par recristallisation (DMSO /H₂O).

**51c**

Formule chimique : C₁₆H₁₀ClFN₂O₂

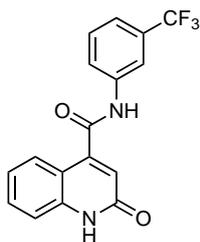
Masse Moléculaire : 316.72 g. mole⁻¹

Rf = 0.08 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 94 %; Pf >330 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 6.75 (s, 1H, CH_{arom}); 7.24 (t, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH_{arom}); 7.37-7.67 (m, 4H, CH_{arom}); 7.74 (d, 1H, ³J_{H-H} = 7.8 Hz, CH_{arom}); 8.08 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH_{arom}) 10.93 (s, 1H, NH); 12.04 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 164.89 (COOH), 161.63 (C=O), 154.15 (d, Cq, ¹J_{C-F} = 242.25 Hz), 145.88-139.77 (Cq-Cq), 136.22 (d, Cq, ⁴J_{C-F} = 3.75 Hz), 131.53 (CH_{arom}), 126.22 (CH_{arom}), 122.75 (CH_{arom}), 122.03 (CH_{arom}), 120.95 (d, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 6.75 Hz), 120.84 (d, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 7.5 Hz), 119.7 (d, Cq, ²J_{C-F} = 18 Hz), 117.55 (d, CH_{arom}, ²J_{C-F} = 21.75 Hz), 116.27 (Cq), 116.23 (CH_{arom}). RMN¹⁹F (282 MHz, DMSO) : δ = -121.47 ppm.

Composé 51d : 2-oxo-N- (3- (trifluorométhyl) phényl) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

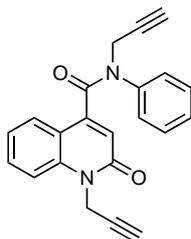
Sur (1 g, 5,29 mmol) du produit 45a on ajoute 10 ml du chlorure de thionyle et le mélange est porté à reflux pendant 2 h. L'excès de chlorure de thionyle a été éliminé, puis ce produit a été utilisé immédiatement pour l'étape suivante sans aucune purification. Ensuite on a ajouté au chlorure d'acyle (0,77 g, 4,83 mmol) de 3-(Trifluorométhyl) aniline dans 10 ml du chloroforme à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été laissé à température ambiante pendant 2 heures. Le mélange est purifié par recristallisation (DMSO /H₂O).

**51d****Formule chimique** : C₁₇H₁₁F₃N₂O₂**Masse Moléculaire** : 332.28 g. mole⁻¹**Rf** = 0.12 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 95 %; Pf >330 °C RMN¹H (300 MHz, DMSO): 6.79 (s, 1H, CH_{arom}); 7.22 (td, 1H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, ⁴J_{H-H} = 0.9 Hz, CH_{arom}); 7.39 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 7.50-7.74 (m, 2H, CH_{arom}); 7.76 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 0.6 Hz, CH_{arom}); 7.96 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH_{arom}); 8.27 (s, 1H, CH_{arom}); 11.08 (s, 1H, NH); 12.08 (s, 1H, NH); RMN¹³C (75 MHz, DMSO): 165.19 (COOH), 161.66 (C=O), 145.87 (Cq), 139.80-139.76 (Cq-Cq), 131.53 (CH_{arom}), 130.59 (CH_{arom}), 129.97 (q, Cq, ³J_{C-F} = 31.5 Hz), 126.34 (Cq), 126.22 (CH_{arom}), 124.03 (CH_{arom}), 122.76 (CH_{arom}), 122.03 (CH_{arom}), 121.03 (q, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 4.5 Hz), 120.85 (CH_{arom}), 116.53 (q, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 4.5 Hz), 116.27 (Cq), 116.24 (CH_{arom}). RMN¹⁹F (282 MHz, CDCl₃) : δ = -61.32 ppm (3F, CF₃).

Composé 52a : 2-oxo-N-phényl-N, 1-di (prop-2-yn-1-yl) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Une solution du composé 51a (0.5 g 1.89 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.37 ml, 4.16 mmoles) de bromure de propargyle, (0.78 g, 5.67 mmoles) de K₂CO₃ et (0.06 g, 0.23 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).



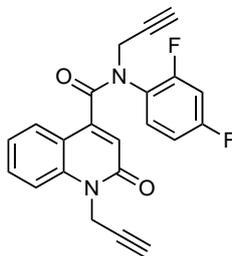
52aFormule chimique : C₂₂H₁₆N₂O₂Masse Moléculaire : 340.38 g. mole⁻¹

Rf = 0.50 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 75 %; Pf: 150.9 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 2.21 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 2.36 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 4.74 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 4.97 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 6.42 (s, 1H, CH_{arom}); 7.18-7.22 (m, 5H, CH_{arom}); 7.33 (td, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 0.9 Hz, CH_{arom}), 7.46 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, CH_{arom}); 7.6 (td, 1H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, CH_{arom}); 7.81 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.2 Hz, CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 166.26 (COOH), 160.06 (C=O), 145.09 (Cq), 140.62-138.75 (Cq-Cq), 131.28 (CH_{arom}), 129.57 (2 CH_{arom}), 128.61 (CH_{arom}), 127.45 (2 CH_{arom}), 126.91 (CH_{arom}), 122.95 (CH_{arom}), 119.80 (CH_{arom}), 118.25 (Cq), 115.04 (CH_{arom}), 78,24 (C≡), 77,51 (C≡), 72,89 (≡CH), 72,60 (≡CH), 38,88 (CH₂), 31,63 (CH₂).

Composé 52b : N- (2,4-difluorophényl) -2-oxo-N, 1-di (prop-2-yn-1-yl) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Une solution du composé 51b (0.5 g 1.66 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0,33 ml, 3,66 mmoles) de bromure de propargyle, (0.69 g, 5.00 mmoles) de K₂CO₃ et (0.05 g, 0.16 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).

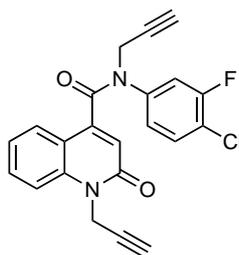
**52b**Formule chimique : C₂₂H₁₄F₂N₂O₂Masse moléculaire : 376.36 g. mole⁻¹

Rf = 0.60 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 73 %; Pf: 143.3 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 2.22 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 2.32 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 4.28 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 5.00 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 6.52 (s, 1H, CH_{arom}); 6.68-7.76 (m, 8H, 8CH_{arom});

Composé 52c : 2-oxo-N, 1-di (prop-2-yn-1-yl) -N- (3- (trifluorométhyl) phényle) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Une solution du composé 51c (0.5 g 1.58 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.31, ml, 3,48 mmoles) de bromure de propargyle, (0.65 g, 4.74 mmoles) de K₂CO₃ et (0.05 g, 0.16 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na₂SO₄ puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).



52c

Formule chimique : C₂₃H₁₅F₃N₂O₂

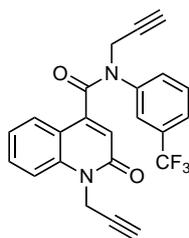
Masse moléculaire : 392.81 g. mole⁻¹

Rf = 0.56 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 80 %; Pf: 159.2 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 2.21 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 2.39 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 4.77 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 4.97 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 6.42 (s, 1H, CH_{arom}); 7.32-7.78 (m, 8H, CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 166.09 (COOH), 159.91 (C=O), 154.15 (d, Cq, ¹J_{C-F} = 259.5 Hz), 144.64-138.80 (Cq-Cq), 137.01 (Cq), 131.62 (CH_{arom}), 129.82 (CH_{arom}), 127.81 (d, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 7.75 Hz), 126.53 (CH_{arom}), 123.10 (CH_{arom}), 119.76 (CH_{arom}), 117.87 (Cq), 117.3 (d, CH_{arom}, ²J_{C-F} = 51 Hz), 115.29 (CH_{arom})..

Composé 52d : 2-oxo-N, 1-di (prop-2-yn-1-yl) -N- (3- (trifluorométhyl) phényle) -1,2-dihydroquinoléine-4-carboxamide

Une solution du composé 51d (0.5 g 1.55 mmoles) dans 10 ml de DMF a été mélangée avec (0.29, ml, 3,31 mmoles) de bromure de propargyle, (0.64 g, 4.66 mmoles) de K_2CO_3 et (0.05 g, 0.16 mmoles) de BTBA. Le mélange réactionnel a été agité à température ambiante dans du DMF pendant 6 heures. Après élimination des sels par filtration, le DMF a été évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu a été dissous dans du dichlorométhane. La phase organique a été séchée par Na_2SO_4 puis concentrée sous vide. Le composé pur a été obtenu par chromatographie sur colonne éluant Hexane / acétate d'éthyle (3/1).

**52d****Formule chimique** : $C_{23}H_{15}F_3N_2O_2$ **Masse moléculaire** : 408.38 g. mole⁻¹**Rf** = 0.66 hexane/ acétate d'éthyle (1/1)

Rdt (%) = 71 %; Pf: 131.1 °C RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 2.21 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 2.39 (t, 3H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, ≡CH); 4.77 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 4.97 (d, 2H, ⁴J_{H-H} = 2.4 Hz, CH₂); 6.42 (s, 1H, CH_{arom}); 7.32-7.78 (m, 8H, CH_{arom}); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 166.09 (COOH), 159.85 (C=O), 144.71 (Cq), 141.13-138.69 (Cq-Cq), 131.61 (CH_{arom}), 130.76 (CH_{arom}), 130.22 (CH_{arom}), 126.53 (CH_{arom}), 125.30 (q, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 4.1 Hz), 124.22 (q, CH_{arom}, ³J_{C-F} = 4 Hz), 123.10 (CH_{arom}), 119.78 (CH_{arom}), 117.89 (Cq), 115.23 (CH_{arom}). RMN¹⁹F (282 MHz, CDCl₃) : δ = -61.32 ppm (3F, CF₃).