

PRÉCURSEURS DE NOUVEAUX HÉTÉROCYCLES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

NEW HETEROCYCLES PRECURSORS WITH BIOLOGIC INTEREST

Rodica DINICĂ,^{a*} Bianca FURDUI,^a Gabriela BHRIM^b et Martine DEMEUNYNCK^c

^aDépartement de Chimie, Faculté de Science, Université « Dunarea de Jos », Galați – 800005, rue Domneasca, 47, Roumanie, e-mail: rodinica@ugal.ro

^bDépartement de Microbiologie, Faculté de Science et Ingénierie Alimentaire, Université « Dunarea de Jos », Galați – 800005, rue Domneasca, 47, Roumanie

^cLEDSS, Université Joseph Fourier, 38041 Grenoble, cedex 9, France

Received September 12, 2006

The conception of molecules with biological properties is very interesting and opens a field of research important in molecular biology and pharmacology. We report here the synthesis of novel heterocyclic compounds with nitrogen, precursors for new heterocycles. We observed that some of these compounds modify in a good manner the growth of microorganisms (bacteria and fungus) in function of structure and doses.

La conception de molécules avec propriétés biologiques est d'intérêt majeur et ouvre un champ de recherche très important en biologie moléculaire et en recherche pharmacologique.

Nous avons mis au point une synthèse de nouveaux hétérocycles azotés, et nous avons observé que certains de ces hétérocycles modifient de façon importante la croissance de microorganismes (bactéries et champignons) en fonction de leur structure et de la dose utilisée.

INTRODUCTION

Nous nous sommes proposés d'étudier la synthèse des sels diquaternaires dérivés de 4,4'-bipyridine, considérablement développés depuis quelques années. Les sels diquaternaires de 4,4'-bipyridine font partie d'un groupe de composés qui ont trouvé des applications comme herbicides, inhibant, par exemple, complètement *Xanthinium strumarium*, *Digituria ciliavis*, *Cyperus rotundus* *Echinocloa crus-gali* ou *Escherichia coli*.¹⁻⁴ Ce type de composés, appelés aussi viologens, ont des propriétés physico-chimiques intéressantes⁵⁻⁹ et sont utilisés comme dipôles 1,3 dans des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire.¹⁰⁻¹⁴ Dans la première étape, nous avons synthétisé les sels quaternaires à partir de la 4,4'-bipyridine. Nous avons ensuite étudié les propriétés antimicrobiennes sur des microorganismes qui sont prédominants dans l'industrie alimentaire (*Lactobacillus delbrueckii*, *Bacillus subtilis*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, et *Saccharomyces cerevisiae*).

RESULTATS

Pour obtenir les sels quaternaires nous avons fait réagir le 4,4'-bipyridine avec des dérivés halogénés en utilisant une stœchiométrie 1:2 (Schéma 1). Parmi les méthodes de synthèse qui se trouvent dans la littérature, nous avons considéré que l'alkylation de 4,4'-bipyridine avec dérivés halogénés réactifs¹⁵ est la plus avantageuse. Les réactions sont donc effectuées au reflux d'un solvant anhydre, l'acétonitrile. Nous avons suivi la réaction par CCM. La structure des sels a été prouvée par analyses spectroscopiques (IR, RMN).

Dans la deuxième étape, nous avons testé les propriétés antimicrobiennes. Les tests concernant l'activité antimicrobienne (microbiostatique et microbicide) ont été réalisés *in vitro*, en milieu liquide de culture: mout de malt ou bouillon nutritif ou bouillon gélose, utilisant la méthode de diffusion. Pour chaque composé testé, nous avons préparé une solution-mère (0,5%). A partir de cette solution nous avons fait 5 solutions (100mg/100g milieu ; 50 mg/100g milieu ; 37,5 mg/100g milieu ; 25 mg/100g milieu ; 12,5 mg/100g milieu). La

* Corresponding author: rodinica@ugal.ro

suspension de cellules a été inoculée en milieu liquide. Après thermostation à 25°C, périodiquement, par intervalle de 24 heures, nous avons poursuivi le développement des cultures inoculées en présence de molécules testées. La croissance a été évaluée par l'apparition d'un trouble (pour bactérie lactique)

ou d'un trouble associé à la formation de voile (pour *Bacillus subtilis*). La croissance des champignons a été poursuivie par l'apparition d'un derme blanc à la surface du milieu de culture. Nous avons apprécié la croissance des microbes testés après 72 heures.

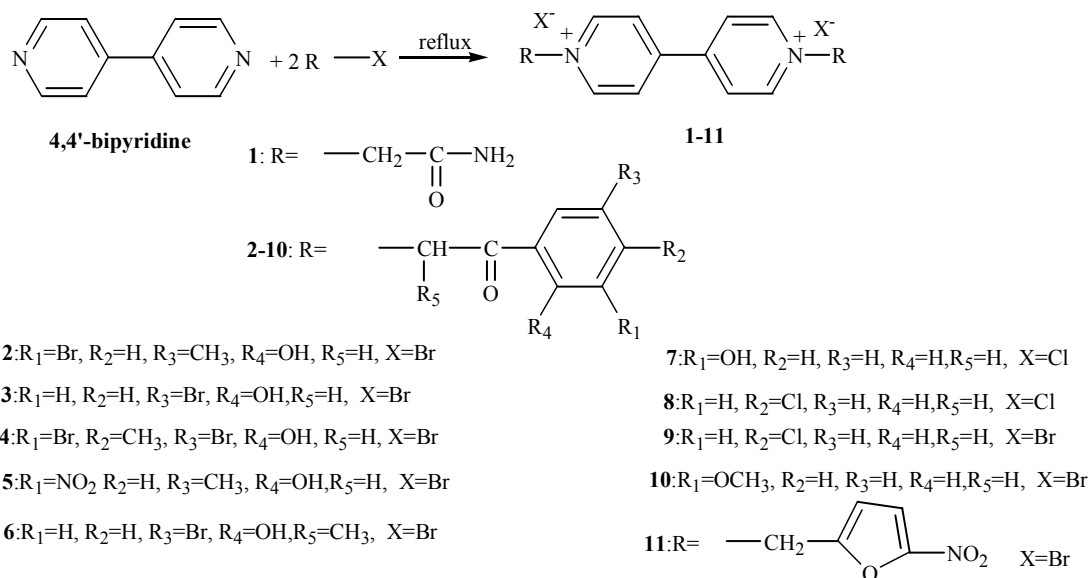


Schéma 1 – Synthèse des sels quaternaires partant du 4,4'-bipyridine.

DISCUSSIONS

Il est important de constater que, parmi les sels que nous avons préparés selon une voie directe de substitution nucléophile, il y a des molécules montrant un effet antimicrobien contre *B. subtilis*,

une bactérie résistante aux substances chimiques, fréquente dans l'industrie alimentaire. Un effet antifongique a été observé avec le composé **3** qui inhibe la croissance de *G. candidum* et montre un effet plus faible contre *A. niger* (tableau 1).

Tableau 1

Résultats obtenus dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne en présence des molécules synthétisées

molecule testee	Cultures inoculées					
	mg/ 100 milieu	Bactérie			Champignon	
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
1	100	---	---	---	---	++-
	50	---	---	---	---	+++
	37,5	---	---	++-	+++	+++
	25	++-	---	+++	+++	+++
	12,5	+++	---	+++	+++	+++
3	100	---	---	---	---	++-
	50	+++	---	---	---	+++
	37,5	+++	+++	---	+++	+++
	25	+++	+++	---	+++	+++
	12,5	+++	+++	---	+++	+++
5	100	---	---	---	---	++-
	50	---	---	---	---	+++
	37,5	++-	---	+++	+++	+++
	25	+++	---	+++	+++	+++
	12,5	+++	---	+++	+++	+++

Légende: +++ croissance évidente ++- croissance faible --- pas de croissance

Les molécules testées ont une influence très faible contre *A. flavus*. Nous avons observé que les bactéries lactiques sont inhibées par les molécules **1**, **3**, **5** aux concentrations supérieures à 50 mg. L'effet le plus important est obtenu avec le composé **3** qui inhibe la croissance aux concentrations les plus faibles. Nous avons aussi utilisé la technique diffusimétrique, qui donne une mesure qualitative, pour tester les composés **1-5**, **8**,

11 contre les bactéries *B. subtilis*, *G. candidum* et *S. cerevisie*, fréquemment rencontrées en industrie alimentaire.

Le tableau 2 présente les résultats comparatifs de l'influence de ces composés sur les bactéries testées. Parmi les résultats nous pouvons observer l'effet antimicrobien des composés **1** et **3** contre *B. subtilis* et des composés **8** et **11** contre *S. cerevisie*.

Tableau 2

L'activité antimicrobienne in vitro par méthode diffusimétrique

Bactérie molécule testée	<i>Geotrichum candidum.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Sacharomyces cerevisie</i>
1	6 mm	33 mm	-
2	10 mm	18 mm	-
3	14 mm	35 mm	2 mm
4	-	23 mm	-
5	-	22 mm	-
8	-	-	57 mm
11	-	24 mm	30 mm

Les premiers résultats obtenus avec des structures de ce type sont très prometteurs. Nous avons synthétisé des nouveaux hétérocycles, sels quaternaires de 4,4'-bipyridine, point de départ de molécules plus complexes qui font aussi l'objet de notre travail. Les sels de ce type sont connus pour leurs propriétés biologiques. L'objectif principal de notre travail a été de tester les nouvelles molécules synthétisées contre quelques microbes et nous avons mis en évidence l'effet antimicrobien de ces composés. Nous désirons développer cette série qui est une famille de sels quaternaires d'ammonium possédant aussi des propriétés physico-chimiques intéressantes.

PARTIE EXPERIMENTALE

Analyses IR- Perkin – Elmer, 2000 FT – IR et 1600 FT – IR(film liquide dans le nujol). Analyses RMN- Varian VX-300 (300 MHz). Analyse élémentaire (C.H.N) - Carlo – Erba model 1106.

Réactifs commerciaux (Aldrich, Merk, Fluka) et internes. Microorganismes-test sont obtenus de la Chaire de Microbiologie de L'Université „Dunarea de Jos” de Galați.

Mode opératoire général

On solubilise 1 mmol de 4,4'-bipyridine dans 20 mL d'acétonitrile anhydre. On ajoute 2,2 mmol de dérivé halogéné. Le milieu réactionnel est porté au reflux avec forte agitation (4-8 heures). Le produit obtenu est lavé avec l'acétonitrile puis est recristallisé dans un solvant approprié (méthanol ou éthanol).

Diiodure de N,N'-dicarbamido-4,4'-bipyridinium (1). F=253-254°C; η=95%.

IR (nujol, cm⁻¹): 3000 (i); 2868,1(m); 1699,6 (i); 1636,4 (i); 1602 (m). ¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 9,15 (d, 4H); 8,69 (d, 4H); 8,19 (s, 2H); 7,79 (s, 2H); 5,45 (s, 4H). Calc pour C₁₄H₁₆N₄O₂I₂ C.30,43; H.3,06; N.10,72 Tr.: C. 31,01; H. 3,48; N.11,10;

Dibromure de N,N'-di(3-bromo-5-methyl-2-hydroxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium (2). F=210-211°C; η=65%. I.R. (nujol, cm⁻¹): 3384,2 (m); 1564,4 (i); 1509 (i); ¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 11,15 (s, H(OH)); 9,35 (d, 4H); 8,95 (d, 4H); 7,91 (s, 2H); 7,82 (s, 2H); 6,55 (s, 4H); 2,35 (s, 6H). Calc pour C₂₈H₂₄N₂O₄Br₄ C.43,52; H.3,10; N.3,62; Br.41,45 Tr.: C.2,06; H. 3,74; N.3,19; Br.39,99

Dibromure de N,N'-di(5-bromo-2-hydroxy-hydroxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium (3). F=250-251°C; η=48%.I.R. (nujol, cm⁻¹): 3385,5 (m); 1662,9 (i); 1635 (i); 1595,2 (m); 1560,2 (m); 1522,1 (m).¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 11,65 (s, H(OH)); 9,55 (d, 4H); 9,01 (d, 4H_b); 7,85 (s, 2H); 7,72 (dd, 2H, 2H); 6,81 (s, 4H);. Calc pour C₂₈H₂₄N₂O₄Br₂ C.36,75 ; H.2,73; N.3,62 Tr.: C.35,97 ;H.2,75;N3,02

Dibromure de N,N'-di(3,5-dibromo-4-methyl-2-hydroxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium (4). F= 211-213°C; η=58%. I.R. (nujol, cm⁻¹): 3300 (m); 1644,5 (i); 1601 (i); 1543,4 (m); 1523,7 (m). ¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 11,48 (s, H(OH)); 9,15 (d, 4H); 8,79 (d, 4H); 8,09 (s, 2H); 6,48 (s, 4H); 2,48 (s, 6H).Calc pour C₂₈H₂₂N₂O₄Br₆ C.36,12; H.2,36; N.3,01 Br.51,61 Tr.: C.36,41; H.2,02; N.3,28; Br.51,19

Dibromure de N,N'-di(3-nitro-5-methyl-2-hydroxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium (5). F=230-231°C; η=50% IR (nujol, cm⁻¹): 3200 (m); 1681,1 (i); 1637,4 (i); 1571,5 (m); 1534,3 (m).¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 11,15 (s, H(OH)); 9,35 (d, 4H); 8,95 (d, 4H); 8,21 (s, 2H); 8,05 (s, 2H); 6,43 (s, 4H); 2,41 (s, 6H). Calc pour C₂₈H₂₄N₄O₈Br₂ C.47,72; H.7,73; N.3,40; Br.22,72 Tr.: C.47,29; H.7,25; N.3,66; Br.23,19

Dibromure de N,N'-di(5-bromo-2-hydroxy-propiofenacyl)-4,4'-bipyridinium (6). F= 219-220°C; η=48%. I.R. (nujol, cm⁻¹): 3387,5 (m); 1662,9 (i); 1632,3(i); 1593,2 (m); 1551,2 (m); 1522,1 (m). ¹H-RMN (DMSO-d₆, TMS, δ, ppm): 11,65 (s,

H(OH)); 9,55 (d, 4H); 9,01 (d, 4H); 7,85 (s, 2H); 7,72 (dd, 2H, 2H); 6,81 (q, 2H); 3,6 (d, 6H). Calc pour $C_{28}H_{24}N_2O_4Br_2$ C.36,75; H.2,73; N.3,62 Tr.: C.35,97; H.2,75; N.3,02

Dichlorure de N,N'-di(3,-dihydroxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium(7) F=326-327°C; $\eta=70\%$

1H -RMN (DMSO- d_6 , TMS, δ , ppm): 9,29 (OH); 8,86 (dd, 4H); 8,69 (dd,4H); 7,57 (d, 2H);7,54 (d,2H) 7,06 (d, 2H); 6,48 (s, 4H). Calc pour $C_{26}H_{22}N_2O_6Cl_2$ C.58,98; H.4,16; N.5,29 Tr.:C.58,60; H. 4,02; N.5,61

Dichlorure de N,N'-di(p-chlorophenacyl)-4,4'-bipyridinium (8).F=302-303°C; $\eta=70\%$ IR (nujol, cm^{-1}): 1726 (i); 1597 (i); 1572 (i); 1541,8 (m); 1526 (m). 1H -RMN (DMSO- d_6 , TMS, δ , ppm): 9,19 (d, 4H); 8,75 (d, 4H); 8,15 (d,4H); 7,79 (d, 4H); 6,55 (s, 4H). Calc pour $C_{26}H_{20}N_2O_4Cl_4$ C.58,12; H.3,74; N.5,24 Tr.:C.58,60; H. 4,02; N.5,61

Dibromure de N,N'-di(p-chlorophenacyl)-4,4'-bipyridinium (9) F= 348-349°C; $\eta=75\%$. IR (nujol, cm^{-1}): 1692,9 (i); 1641,91 (i); 1588,9 (m); 1576 (m). 1H -RMN (DMSO- d_6 , TMS, δ , ppm): 9,12 (d, 4H); 8,81 (d, 4H); 8,15 (d,4H); 7,82 (d, 4H); 6,48 (s, 4H). Calc pour $C_{26}H_{20}N_2O_4Br_2Cl_2$ C.50,08; H.3,21; N.4,49 Tr.: C.50,61; H.3,61;N.5,01

Dibromure de N,N'-di(m-methoxyphenacyl)-4,4'-bipyridinium (10) F= 269-270°C; $\eta=87\%$. IR(nujol, cm^{-1}): 1695,3 (i); 1638,4 (i); 1590 (i); 1591(m); 1534 (m). 1H -RMN (DMSO- d_6 , TMS, δ , ppm): 9,34 (d, 4H); 8,95 (d, 4H); 8,12 (s, 2H); 7,55-7,78 (m, 6H, 2H, 2H, 2H); 6,611 (s, 4H); 3,87 (s, 6H). Calc pour $C_{28}H_{26}N_2O_4Br_2$ C.54,72; H.4,23; N.4,56; Tr.: C.54,80; H.4,57; N.4,508

Dibromure de N,N'-di(4'-nitrofuran)-4,4'-bipyridinium (11) F= 255-256°C; $\eta=95\%$. 1H -RMN (DMSO- d_6 , TMS, δ , ppm): 9,52 (dd, 4H); 8,85 (dd, 4H); 7,74 (d, 2H); 7,26 (d, 2H); 6,22 (s, 4H). Calc pour $C_{20}H_{16}N_4O_6Br_2$ C.42,25; H.2,82; N.9,86; Tr. C.42,50; H.2,57; N.9,58

REFERENCES

1. N. Ratnakar Asolkar; R. Kamat et P. Vijayendra, *J. Nat. Prod.*, **2002**, 565.
2. Hui Chen et F. Chen, *Biotech. Lett.*, **2000**, 22, 715-720.
3. Eiler, R., *Contamin. Hazard Review*, **1990**, 22, 122.
4. A. Knauff et R. David, *Weed Technol.*, **1990**, 4, 866-870.
5. L. Cenet et K.G. Neoh, *Biosensors Bioel.*, **2003**, 18, 363-374.
6. J.W. Park et S.Y.Lee, *J. Inclusion Phenom Macrocylic Chem.*, **2003**, 47, 143-148.
7. W. Chai, J.G. Breitenbucher, A. Kwok, X. Li, V. Wong, N. I. Carruthers, T. W. Lovenberg, C. Mazur, S.J. Wilson, F. U. Axe et T. K. Jones, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 1767-1770.
8. E. Clennan, *Coord. Chem. Rev.*, **2004**, 248, 477-492.
9. I. Druta, R. Dinica, E. Bacu et M. Andrei, *Anal. St Univ. "A.I.Cuza", Iasi, s. Chimie*, **1998**, VI, 19.
10. R. Dinică et C. Pettinari, *Heterocyclic Comm.*, **2001**, 7, 381-386.
11. X. Fang, Y. M. Wu, J. Deng, S. W. Wang, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 5487-5493.
12. R.Régis Millet, J. Domarkas, B. Rigo, L.Goossens, J.-F. Goossens, R. Houssin et J. P. Henichart, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 2905-2912.
13. T.Troll, H. Beckel et C. Lentner-Bohm, *Tetrahedron*, **1997**, 53, 81-90.
14. S. Z. Zhu, C. Y. Qin., Y. L. Wang, Q. L. Chu, *J. Fluor. Chem.*, **1999**, 99, 183-187.
15. H.Ph. Buu-Hoi et D. Lavit, *J. Chem. Soc.*, **1955**, 18.