

UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ  
UFR SCIENCES MÉDICALES ET PHARMACEUTIQUES DE BESANCON  
4, Place saint Jacques-25030 Besançon cedex

École Doctorale Homme Environnement Santé

THÈSE

présentée pour l'obtention

du DIPLÔME DE DOCTORAT

Spécialité SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

Synthèse et Évaluation de nouveaux dérivés quinoléiques  
impliqués dans les maladies neurodégénératives

Présentée et soutenue publiquement le  
10 décembre 2010

Par

Melle TOMASSOLI Isabelle

Thèse dirigée par le Professeur B. REFOUVELET  
Et Co-encadré par le Docteur L. Ismaili

**JURY:**

**Rapporteurs:**

M. José-Luis MARCO-CONTELLAS, Professeur, CSIC de Madrid, Espagne  
M. Roland BARRET, Professeur, Université Claude Bernard Lyon 1, France

**Directeur de thèse:**

M. Bernard REFOUVELET, Professeur, Université de Franche-Comté, France

**Co-encadrant:**

M. Lhassane ISMAILI, Maître de conférences, Université de Franche-Comté, France



# Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire de chimie organique et thérapeutique, à l'UFR des Sciences Médicales et Pharmaceutiques de Besançon, dirigé par le Pr. Bernard Refouzelet. Je le remercie de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Je remercie également le Dr. L. Ismaili pour son encadrement, ses conseils ainsi que son soutien tout au long de ma thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Pr. J.L. Marco-Contelles, pour avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteur et de m'avoir accueillie chaleureusement dans son laboratoire pour y effectuer des expériences. Sa présence à ce jury est un honneur et je lui en suis très reconnaissante.

Je remercie le Pr. R. Barret de l'université Claude Bernard de Lyon 1 qui m'a également fait l'honneur de juger ce travail en tant que rapporteur. Je le remercie pour sa présence.

Je souhaite également adresser de chaleureux remerciements à ceux que j'ai côtoyés pendant ces trois années au laboratoire et avec qui j'ai passé des moments mémorables :

Anne, Faty, Firas et Rania, merci à vous pour vos conseils avisés, pour votre gentillesse et surtout ces pauses café !!!

Mireille et Anne-Marie, merci pour ces petits moments inoubliables.

Un énorme merci à Laure qui a su être présente dans chacun de mes moments de faiblesse, trouve ici toute ma reconnaissance et mon admiration.

Un remerciement particulier à Marc pour sa patience et son soutien moral. Je m'en souviendrai.

Un grand merci à tous ceux que j'ai côtoyés tout au long de mes études, le voyage forme la jeunesse et toutes ces rencontres ont fait de moi ce que je suis.  
Merci à tous.

Enfin et surtout, mes remerciements les plus forts reviennent à ma famille.  
À mes parents et mon frère qui m'ont encouragée et soutenue pendant toutes ces années d'études et sans qui je n'aurais pu aller au bout de mes projets.

Pour terminer, un dernier remerciement à Joel pour son affection son soutien et son petit dessin.

# **TABLE DES MATIÈRES**



Remerciements.....	1
Liste des abréviations .....	10
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	15
CHAPITRE I.....	20
Maladie d'Alzheimer : physiopathologie et stratégies thérapeutiques.....	20
I. De 1906 à nos jours.....	21
1. Découverte.....	21
2. Manifestations cliniques et diagnostic .....	23
2.1. Manifestations cliniques.....	23
2.2. Diagnostic.....	24
2.2.1. Tests neuropsychologiques .....	24
2.2.1. Techniques d'imagerie cérébrale.....	25
II. Physiopathologie et stratégies thérapeutiques .....	25
1. Les plaques séniles ou plaques amyloïdes .....	26
1.1. Le peptide amyloïde.....	26
1.2. Agrégation du peptide $\beta$ -amyloïde .....	27
2. La dégénérescence neurofibrillaire .....	28
2.1. La protéine tau .....	29
2.2. Hyperphosphorylation.....	30
3. Le Stress oxydant et le rôle des métaux dans la maladie d'Alzheimer.....	31
3.1. Le cuivre dans la maladie d'Alzheimer .....	31
3.2. Le fer dans la maladie d'Alzheimer.....	31
3.3. Interaction du cuivre et du fer avec le peptide $\beta$ -amyloïde.....	32
4. Les neurotransmetteurs .....	33
4.1. La voie cholinergique .....	33
4.2. Inhibiteurs des cholinestérases .....	34
4.2.1. Acétylcholinestérase .....	34
4.2.2. Butyrylcholinestérase.....	35
4.3. Cholinestérases et maladie d'Alzheimer .....	35
4.4. La voie glutaminergique .....	36
5. Stratégies thérapeutiques.....	37
5.1. Le stress oxydant .....	38
5.1.1. Antioxydants directs .....	39
5.1.2. Antioxydants indirects ou chélateurs de métaux .....	40
5.2. Le déficit cholinergique .....	41
5.3. Autres cibles .....	43
5.3.1. Inhibiteur acétylcholinestérase .....	43
5.3.2. Récepteurs glutaminergiques .....	43
5.3.3. Monoamine-oxydase B .....	44
CHAPITRE II.....	45
Le noyau quinoléique .....	45
I. Quinoléines .....	46
1. Généralités.....	46
2. Sources et intérêts .....	48
2.1. Antibiotiques .....	49
2.2. Anticancéreux.....	50
2.3. Autres activités .....	51
3. Voie d'accès .....	52

3.1.	A partir de l'aniline .....	52
3.1.1.	Réaction de Skraup .....	53
3.1.2.	Réaction de Conrad-Limpach.....	54
3.1.3.	Réaction de Combes .....	56
3.2.	A partir de l'ortho-aniline .....	56
3.2.1.	Réaction de Friedländer .....	57
3.2.2.	Réaction de Pfitzinger.....	58
3.3.	Développements récents.....	59
II.	Projet de recherche .....	62
1.	Quinoléines et système nerveux central.....	62
1.1.	Les antioxydants et chélateurs de métaux .....	62
1.2.	Inhibiteurs d'acétylcholinestérase multifactoriels .....	63
1.3.	Quinoléines et récepteurs des benzodiazépines.....	66
1.4.	Autres domaines du SNC .....	68
1.4.1.	Agonistes sélectifs des CB <sub>2</sub> .....	68
1.4.2.	Tyrosine kinase.....	68
1.4.3.	Antagonistes des récepteurs NK <sub>3</sub> .....	69
2.	Les stratégies de synthèses .....	70
3.	Réaction de Niementowski.....	71
3.1.	A partir d'une cétone ou d'un acétate .....	71
3.1.1.	Généralités.....	71
3.1.2.	Utilisations .....	72
3.2.	A partir d'un amide.....	73
3.2.1.	Généralités.....	73
3.2.2.	Utilisations .....	74
4.	Réaction de Biginelli.....	76
4.1.	Généralités.....	76
4.2.	Mécanisme.....	77
4.3.	Variation des réactifs .....	79
4.4.	Réaction de cyclisation .....	80
4.4.1.	Cyclisation en C <sub>5</sub> /C <sub>6</sub> .....	81
4.4.2.	Cyclisation C <sub>2</sub> /N <sub>3</sub> .....	82
4.4.3.	Autres Cyclisations .....	83
4.5.	Activités biologiques .....	83
	CHAPITRE III .....	85
	Travaux personnels.....	85
I.	Introduction.....	86
II.	Les antioxydants et chélateurs de métaux .....	86
1.	Les Pharmacophores .....	87
1.1.	Pharmacophore antioxydant .....	88
1.2.	Le pharmacophore chélatant .....	89
2.	Synthèse .....	90
2.1.	1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides .....	90
2.2.	1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides .....	92
2.2.1.	A partir de l'anhydride isoatoïque .....	92
2.2.2.	A partir de l'acide anthranilique .....	97
3.	Les Tests physicochimiques .....	98
3.1.	Test de chélation du Cu(II) et Fe(II et III) .....	98
3.1.1.	Test de chélation avec CuCl <sub>2</sub> .....	99
3.1.1.1.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6).....	99

## Table des matières

3.1.1.2.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) .....	100
3.1.1.3.	En conclusion .....	101
3.1.2.	Test de chélation avec FeSO <sub>4</sub> .....	103
3.1.2.1.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6).....	103
3.1.2.2.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) .....	104
3.1.2.3.	En conclusion .....	105
3.1.3.	Test de chélation avec FeCl <sub>3</sub> .....	106
3.1.3.1.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6).....	106
3.1.3.2.	Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) .....	107
3.1.3.3.	En conclusion .....	108
3.2.	Test de chélation à la Ferrozine .....	110
3.2.1.	Evaluation de l'activité des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides .....	110
3.2.1.	Evaluation de l'activité des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides .....	111
3.3.	Test au DPPH .....	112
3.3.1.	Evaluation des propriétés antioxydantes des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides .....	113
3.3.2.	Evaluation des propriétés antioxydantes des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides .....	115
3.4.	Test antioxydant de l'anion superoxyde .....	116
3.4.1.	Evaluation des propriétés des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides .....	117
3.4.2.	Evaluation des propriétés des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides .....	119
3.5.	Autre Test .....	121
3.6.	Conclusion et corrélation des modèles .....	121
III.	Les cholinestérases .....	126
1.	Les structures .....	126
1.1.	Dihydropyrimidoquinoléines.....	126
1.1.1.	Les composés .....	126
1.2.	Pyrazoloquinolinones .....	128
1.2.1.	Les composés angulaires.....	129
1.2.1.1.	Le schéma de synthèse .....	129
1.2.1.2.	Les anhydrides isatoïques.....	131
1.2.2.	Les composés linéaires .....	133
2.	Les tests biologiques .....	134
2.1.	Acétylcholinestérase .....	134
2.2.	Butyrylcholinestérase.....	134
2.3.	Les résultats.....	135
2.3.1.	Evaluation biologique des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides .....	135
2.3.2.	Evaluation biologique des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides .....	136
2.3.3.	Evaluation biologique des dihydropyrimidoquinoléines .....	137
2.3.4.	Evaluation biologique des pyrazoloquinolinones.....	138
3.	Modélisation moléculaire .....	139
3.1.	Généralités.....	139
3.2.	1,2-dihydroquinoléine-carboxamides .....	140
3.3.	1,2-dihydroquinoléine-carbohydrazides .....	142
3.4.	Dihydropyrimido quinoléines.....	143
3.5.	Conclusion.....	144
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	146
	PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	150
	Références.....	240

# Liste des abréviations

## Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

---

ACh	AcétylCholine
AChE	AcétylCholinEstérase
ADN	Acide DesoxyriboNucléique
APP	Amyloid Precursor Protein
BACE	Bêta-site APP-Cleaving Enzyme
BuChE	ButyrylCholinEstérase
BZR	Récepteurs des Benzodiazépine
CAT	Choline Acétyl Transférase
CB2	récepteur Cannabinoïde 2
CC	Centre Catalytique
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones científicas
d	Doublet
dd	Doublet Dédoublé
DHP	DiHydroPyridine
DHPM	DiHydroPyriMidine
DIPEA	DiIsoPropylEthylAmine
DMA	DiMéthylAcétamide
DMF	DiMéthylFormamide
DMSO	DiMéthylSulfOxyde
DPPH	1,1-Diphényl-2-picryl-hydrazyl

## Liste des abréviations

---

DTNB	acide 5,5'-Dithio-Bis 2-Nitrobenzoïque
GABA	acide Gamma AminoButyrique
IQOG	Instituto de Química Orgánica General
IR	Infra-Rouge
IRM	Imagerie à Résonance Magnétique
J	Constante de couplage
m	Multiplet
MMSE	Mini Mental State Examination
NK3	NeuroKine 3
NMDA	N-Méthyl-D-Aspartate
PAS	Site Periphétique Anionique
PBR	Récepteurs Périphérique des Benzodiazépines
q	Quadruplet
RMN (NMR)	Résonance Magnétique Nucléaire
ROS	Reactive Oxygen species
RSA	Radical Scavenging Activity
RT	Room Temperature
s	Singulet
SASA	Superoxyde Anion Scavenging Activity
t	Triplet

## Liste des abréviations

---

TEP	Tomographie par Emission de Position
TNB	Nitro Blue Tetrazolium
UV	Ultra Violet
VDCC	Voltage-Dependent du Canal de Calcium
$\beta$ A	beta amyloid
$\beta$ -NADH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
$\delta$	Déplacement Chimique

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**



Le terme de mémoire est « la propriété de conserver et de restituer des informations ». Elle implique un grand nombre de processus au niveau du système nerveux central, du conditionnement et de l'apprentissage sensorimoteur.

Cependant, il y a des cas où notre mémoire nous fait défaut. Les personnes âgées nous dirons que ces dysfonctionnements deviennent de plus en plus fréquents avec l'âge.

Face à un phénomène de vieillissement de la population de plus en plus important en occident, on assiste à une augmentation de la maladie d'Alzheimer chez les individus âgés de plus de 75 ans.

Actuellement, il existe très peu de traitements commercialisés en France. De plus, leurs propriétés sont principalement symptomatiques. Ils permettent d'améliorer les conditions de vie et la prise en charge des patients. C'est dans ce contexte, que des études dans le domaine des pertes de mémoire liées au vieillissement, comme la maladie d'Alzheimer ne cessent de se développer.

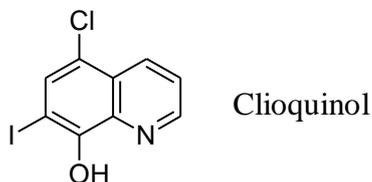
Plusieurs facteurs seraient à l'origine de cette démence neurodégénérative, impliquant différentes perspectives de recherche.

Cette pathologie est caractérisée dans le cerveau humain par la présence de plaques amyloïdes et d'une dégénérescence neurofibrillaire. Le peptide  $\beta$  amyloïde est à l'origine de ces dépôts et il favorise également la production d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) responsable de dommages oxydatifs au niveau cérébral lorsqu'il est en interaction avec le cuivre ou le fer.

Dans la maladie d'Alzheimer, les neurones cholinergiques sont particulièrement affectés et constituent une cible thérapeutique. Un des moyens d'augmenter l'activité du système cholinergique est d'éviter la dégradation de l'acétylcholine en bloquant l'acétylcholinestérase.

Dans le premier chapitre nous présenterons brièvement la maladie d'Alzheimer. Après un rappel historique, nous décrirons la pathologie de la maladie. Nous traiterons ensuite des différentes approches thérapeutiques possibles.

De plus, les quinoléines sont des composés naturels ou de synthèse présentant des activités biologiques très diverses. Quelques-unes d'entre elles sont impliquées dans la maladie d'Alzheimer tel que le clioquinol.



Clioquinol

Le deuxième chapitre introduira tout d'abord les différents intérêts thérapeutiques et quelques structures ciblées des quinoléines récemment décrites dans la littérature. Nous verrons les réactions classiques et quelques modifications modernes réalisées sur celles-ci pour la synthèse du noyau quinoléique. Nous nous intéresserons ensuite aux quinoléines ciblant le système nerveux central et la maladie d'Alzheimer. Enfin nous exposerons les réactions clés de notre projet de recherche. Nous décrirons la réaction de Niementowski et la réaction de Biginelli.

Ce travail de thèse s'inscrit dans la continuité de la thématique « étude de xénobiotiques de synthèse dans le contexte de la prévention du vieillissement : synthèse hétérocyclique et évaluation du potentiel antioxydant » conduite depuis plusieurs années par notre équipe. Nous avons également développé une approche « pharmacophore based design » par modélisation d'un pharmacophore antioxydant et chélateur de métaux. Par ailleurs, toutes ces molécules ont également été évaluées comme inhibiteurs des cholinestérases.

Le chapitre III sera donc consacré aux travaux personnels. Le logiciel de Discovery Studio récemment acquis par le laboratoire nous a permis de développer une approche « pharmacophore based design ». Nous avons ainsi établi à partir d'un algorithme d'élucidation de pharmacophore deux modèles 3D. On présentera dans un premier temps ces deux modèles, le pharmacophore antioxydant et le pharmacophore chélateur de métaux. A partir de ces modèles nous avons réalisé la synthèse de deux séries de composés :

- les 1,2-dihydroquinoléine-carboxamides
- les 1,2-dihydroquinoléine-carbohydrazides

Ces derniers tiennent compte des éléments donnés par les pharmacophores auxquels nous avons introduit le noyau quinoléique. Nous avons ensuite réalisé différents tests de chélation et antioxydant permettant d'établir la corrélation et confirmer les pharmacophores exposés.

Dans l'objectif d'approfondir les propriétés des quinoléines vis-à-vis de la prévention de la maladie d'Alzheimer, nous avons réalisé une évaluation biologique de nos composés. Les composés précédemment synthétisés sont testés dans le but de découvrir des molécules ayant une activité multifactorielle. Nous avons également synthétisé deux autres séries de molécules par des réactions multi-composants ou d'hétérocyclisation pour leur propriétés potentielles comme inhibiteur de l'acétylcholinestérase :

- les dihydropyrimidoquinoléines
- les pyrazoloquinolinones

La dernière partie traitera de l'évaluation biologique de cet ensemble de dérivés quinoléiques. On présentera le potentiel inhibiteur de l'acétylcholinestérase de ces composés. Le docking des molécules actives permettra de mettre en évidence les interactions existantes avec l'enzyme.

Ces tests biologiques ont été réalisés en collaboration avec le laboratoire des radicaux libres et de la chimie computationnelle (IQOG, CSIC) et l'Instituto Teófilo Hernando de Madrid.

Nous terminerons notre mémoire par une conclusion et une discussion sur les perspectives de recherche.

# **CHAPITRE I**

## **Maladie d'Alzheimer : physiopathologie et stratégies thérapeutiques**

## I. De 1906 à nos jours

### 1. Découverte

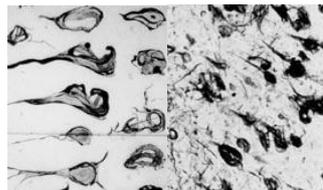
Le Dr. Alois Alzheimer, neurologue et psychiatre allemand a été le premier à décrire une forme de démence sénile. Celle-ci sera connue sous le nom de la maladie d'Alzheimer.



Alois Alzheimer 1864-1915

Cet état de démence est décrit pour la première fois lors d'une conférence de psychiatres allemands en 1906 à Tübingen. Alzheimer expose le cas d'une femme, Auguste D., présentant une progressive déficience cognitive incluant une réduction de la compréhension et de la mémoire [1].

En effectuant une autopsie du cerveau de cette patiente, il identifie des « plaques » et une dégénérescence neurofibrillaire, qui seront les indicateurs distinctifs de la maladie d'Alzheimer [2].



**Figure 1** : A gauche neurodégénérescences neurofibrillaires, tel que le vit et le dessina Alzheimer, bien différent de ce que l'on observe à droite avec les nouvelles techniques de coloration et d'observation.

Les « plaques » sont constituées d'un ensemble de neurones dégénérés, toxiques pour les cellules cérébrales. La dégénérescence neurofibrillaire est une accumulation de fragments de protéines en hélice dans les cellules nerveuses.

A cette époque, cet état de démence était considéré par la grande majorité des psychiatres comme un processus « normal » de vieillissement. C'est dans les années 60 que l'on découvre le lien existant entre la détérioration des fonctions cognitives et le nombre de

plaques dans le cerveau, ce qui amènera les scientifiques à reconnaître la maladie d'Alzheimer comme pathologie à part entière. Elle va de ce fait susciter l'intérêt du milieu de la recherche et les connaissances de cette maladie vont évoluer.

Les nouveaux outils et techniques scientifiques ont permis d'explorer et comprendre les interactions complexes qui détruisent les cellules nerveuses dans le cerveau. Dans les années 70, les chercheurs isolent les neurotransmetteurs, et émettent l'hypothèse d'un déficit en acétylcholine. Ce n'est qu'à partir des années 80 que l'intérêt général pour la maladie d'Alzheimer grandit. En effet, elle est de plus en plus fréquente, les sujets à risque étant de plus en plus nombreux du fait de l'augmentation de l'espérance de vie. Avec l'avancée de la recherche, on met en évidence le peptide  $\beta$ -amyloïde et la protéine tau qui composent respectivement les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires. Ces dernières constituent les principales altérations du système nerveux central.



**Figure 2** : Neurones d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer comparés à ceux d'un patient sain [3].

Cette maladie des temps modernes est essentiellement liée à l'âge, 13% des hommes et 20% des femmes de plus de 75 ans sont concernés. Mais cette maladie fait aussi des victimes chez les plus jeunes : 30.000 à 50.000 malades ont moins de 60 ans.

La France compte plus de 800.000 personnes touchées par cette affection. Chaque année, 225.000 nouveaux cas sont recensés. Avec le vieillissement de la population, cette maladie ne cesse de progresser. Notre pays devrait compter 1,2 million de personnes malades en 2020 et 2,1 millions en 2040.

La maladie d'Alzheimer peut donc être considérée comme un problème majeur de santé publique.

## 2. Manifestations cliniques et diagnostic

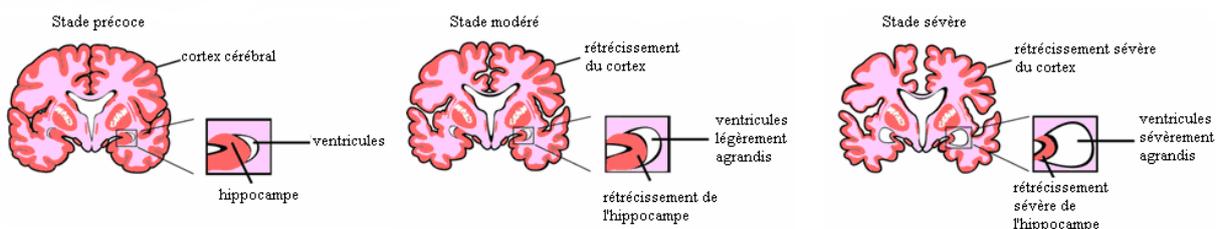
### 2.1. *Manifestations cliniques*

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par une perte neuronale prédominant dans le cortex temporal et l'hippocampe (zone mémoire du cerveau) entraînant des troubles de la mémoire, du langage, de la reconnaissance et des activités gestuelles.

Le début de la maladie est habituellement progressif et difficile à reconnaître, c'est pourquoi le diagnostic est souvent tardif. Aucun test biologique ne permet d'affirmer avec certitude la présence de l'affection.

L'évolution de la maladie peut être présentée en trois phases :

- **1<sup>ère</sup> phase (stade précoce)** : c'est la phase pré-clinique pendant laquelle la maladie attaque uniquement les neurones cholinergiques du système limbique et particulièrement ceux de l'hippocampe. Ces changements peuvent commencer à se produire 20 ans voire plus avant le diagnostic.
  
- **2<sup>ème</sup> phase (stade modéré)** : c'est la phase pré-démontielle, la maladie évolue de façon significative. L'hippocampe continue à perdre de ses neurones. Cette période peut durer de 2 à 10 ans.
  
- **3<sup>ème</sup> phase (stade sévère)** : c'est la phase démentielle, 90% de l'hippocampe est ravagé, la récupération d'informations est quasi nulle. Cette phase dure en moyenne de 1 à 5 ans et se termine par le décès de la personne.



**Figure 3 :** Evolution de la maladie

## 2.2. *Diagnostic*

Celui-ci repose essentiellement sur des tests neuropsychologiques et des techniques d'imagerie cérébrale. Cependant aucune de ces techniques ne permet de dépister la maladie de façon précoce. Le diagnostic définitif ne pouvant se faire qu'après un examen *post-mortem*.

### **2.2.1. Tests neuropsychologiques**

Ce sont des épreuves qui ont été mises au point afin d'évaluer la fonction neurologique associée à certaines conduites. Ils permettent de révéler le dysfonctionnement du cerveau.

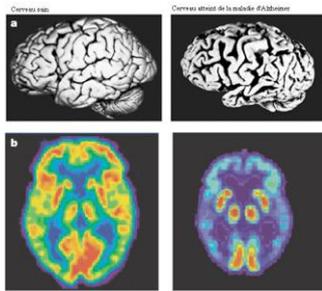
Une première évaluation peut-être faite par le test de Folstein ou Mini Mental State Examination (MMSE). Il est réalisable en 10 min environ et fournit un score sur 30, si celui-ci est inférieur à 24, un état de démence est suspecté. Cependant, ce résultat doit-être interprété avec prudence, car le score peut éventuellement être faussé par le niveau intellectuel du patient. Le diagnostic sur ce seul test serait dangereux et abusif. Ce test doit être complété par une évaluation multidimensionnelle, à savoir d'autres tests spécifiques et l'imagerie médicale.

L'évaluation psychométrique comprend un nombre de tests variés permettant d'explorer de façon approfondie la mémoire, le langage, les gnosies, les praxies gestuelles et constructives, les fonctions exécutives. Parmi ces épreuves, on retrouve le test de Grober et Buschke (évaluation de la mémoire verbale) et le test de Benton (évaluation de la mémoire visuelle).

D'autres tests viennent compléter ceux-ci comme l'entretien psychologique permettant de déterminer le contexte familial et les examens biologiques afin d'éliminer d'autres causes de démence (ex :syphilis).

**2.2.1. Techniques d'imagerie cérébrale**

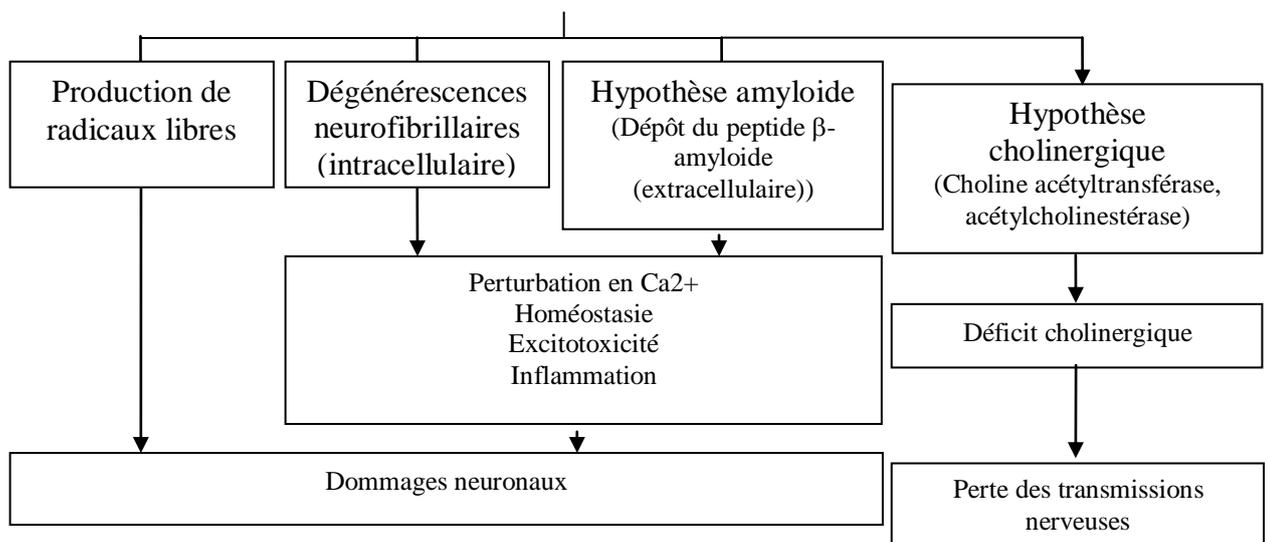
L'étude histologique de la maladie met en avant la présence de lésions cérébrales (plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires) et une atrophie du cerveau. Ces éléments peuvent être mis en évidence par IRM (Imagerie à Résonance Magnétique) ou un examen tomodensitométrique cérébral. On pourra également réaliser une tomographie par émission de positons (TEP), analyse récente permettant une mesure absolue du métabolisme cérébral.



**Figure 4 :** Comparaison de cerveaux de personnes saines et atteintes de la maladie d'Alzheimer [4]. (a) Volume global du cerveau (rétrécissement marqué du lobe temporal (partie basse) et des lobes frontaux (partie gauche)). (b) Imagerie TEP révélant le glucose : le patient atteint de la maladie d'Alzheimer montre une forte diminution du métabolisme énergétique dans le cortex frontal (haut du cerveau) et les lobes temporaux (sur les côtés).

**II. Physiopathologie et stratégies thérapeutiques**

Nous avons vu précédemment que la maladie d'Alzheimer était une pathologie neurodégénérative multifactorielle dont les cibles thérapeutiques sont multiples. L'origine de la maladie est encore mal connue. Dans la littérature, diverses hypothèses majeures existent pour expliquer les mécanismes de la maladie. La cascade amyloïde et la voie cholinergique [5] sont les principales. La dégénérescences neurofibrillaires et la production de radicaux libres sont également des voies thérapeutiques importantes (Schéma 1).



**Schéma 1:** Hypothèses majeures de la maladie d'Alzheimer

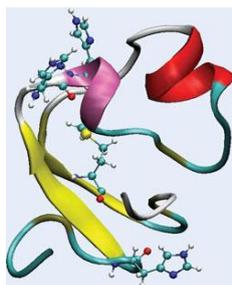
On distingue dans l'hypothèse amyloïdogénique la formation de plaques séniles dues à un clivage anormal du précurseur du peptide  $\beta$ -amyloïde (APP). A cette hypothèse s'ajoute également le dysfonctionnement de la protéine tau conduisant à une dégénérescence neurofibrillaire. La voie cholinergique se traduit par un dysfonctionnement cholinergique entraînant une altération des capacités synaptiques au niveau de l'hippocampe. La partie qui suit va décrire brièvement ces hypothèses et les mécanismes impliqués.

### 1. Les plaques séniles ou plaques amyloïdes

Caractéristique principale de la maladie d'Alzheimer, les plaques amyloïdes sont des dépôts extracellulaires de protéine  $A\beta$ , résultant de deux clivages de la protéine APP par la sécrétase. Elles sont neurotoxiques puisqu'elles entraînent la libération des radicaux libres conduisant à la mort neuronale.

#### 1.1. *Le peptide amyloïde*

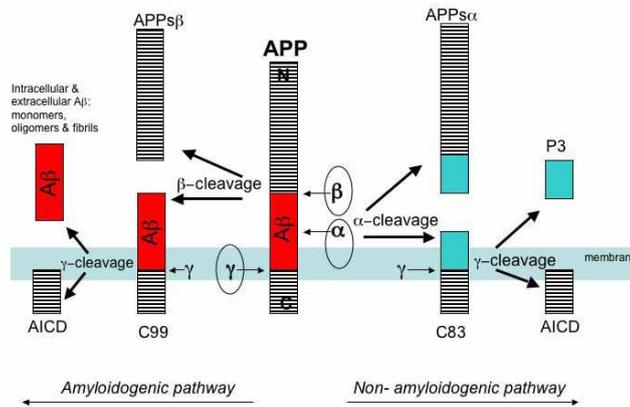
C'est un peptide composé de 39 à 43 acides aminés. On le retrouve principalement au niveau cérébral mais également dans la circulation sanguine. Il est extrêmement insoluble et s'accumule autour des neurones dans la maladie d'Alzheimer.



**Figure 5 :** Structure du peptide bêta amyloïde

Ce peptide provient de la protéine transmembranaire appelée APP, celle-ci est découpée par une protéase (la sécrétase) permettant de donner la forme voulue au neurone. Cette protéine peut-être traitée via deux voies protéolytiques, chacune conduisant à deux produits distincts [6]. La première voie conduit au clivage de l'APP par la  $\beta$ -sécrétase. Par cette enzyme, le fragment  $\beta$ -APP est formé. Celui-ci est soluble et non toxique. Le fragment transmembranaire restant est clivé par la  $\gamma$ -sécrétase et conduit à la formation du peptide  $\beta$ -

amyloïde (voie amyloïdogénique). La seconde voie implique une coupure par l' $\alpha$ -sécrétase. On obtient ainsi le fragment dit  $\alpha$ -APP soluble et libéré dans le milieu extra cellulaire. La fraction restante est clivée au niveau membranaire par la  $\gamma$ -sécrétase menant au fragment soluble extra membranaire P3, et dont le rôle est inconnu (voie non-amyloïdogénique).



**Figure 6 :** Représentation des voies amyloïdogénique et non amyloïdogénique[7] .

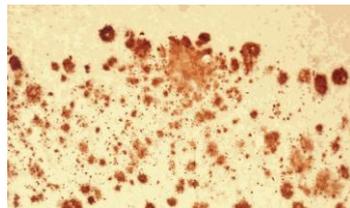
Le clivage par la  $\beta$ -sécrétase serait favorisé par la mutation de l'APP dans le cas de la maladie d'Alzheimer familiale à début précoce. Dans les cas de maladie sporadique, les facteurs aboutissant à l'accumulation de ce peptide ne sont pas connus. Cependant, différentes hypothèses sont mises en avant telles que l'augmentation du stress oxydatif, la diminution du métabolisme ou une perturbation de l'homéostasie des métaux.

### 1.2. Agrégation du peptide $\beta$ -amyloïde

Il y a plus de 10 ans, on propose pour la première fois que les dépôts du peptide  $\beta$ -amyloïde pourraient-être à l'origine de la neurodégénérescence produite dans la maladie d'Alzheimer. Comme il a été précisé précédemment, les plaques amyloïdes sont des dépôts extracellulaires du peptide  $\beta$ -amyloïde. Ces dépôts sont observés sous forme d'une substance blanche et gluante autour des neurones endommagés lors de l'autopsie d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer. Les plaques se retrouvent généralement au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe.

Nous avons vu que le peptide  $\beta$ -amyloïde est obtenu via le clivage de l'APP par la  $\beta$ -sécrétase. Elle conduit à l'obtention de deux principaux fragments [8].  $A\beta$ -40 est un fragment formé de 40 acides aminés, il représente 90% des fragments formés. Le second est plus long et représente 10% des fragments formés. Ce dernier possède 42 acides aminés et est noté  $A\beta$ -42. Ils sont présents sous forme soluble dans les cerveaux sains. Cependant, la majorité des  $A\beta$  formés sont enclin à l'aggrégation. L'accumulation se fait sous forme de feuilletés  $\beta$ , et dépend de la concentration en peptide  $A\beta$ . On observe dans un premier temps, la formation d'oligomères, puis des plaques.

Le fragment  $A\beta$ -42 est le premier constaté de façon diffuse au niveau de la substance grise. Le fragment  $A\beta$ -40 n'apparaît que plus tardivement. Il semblerait que l' $A\beta$ -42 soit le principal composant et qu'il jouerait un rôle plus important que le  $A\beta$ -40 dans la pathologie



**Figure 7 :** Dépôts initiaux du  $A\beta$ -42[9] .

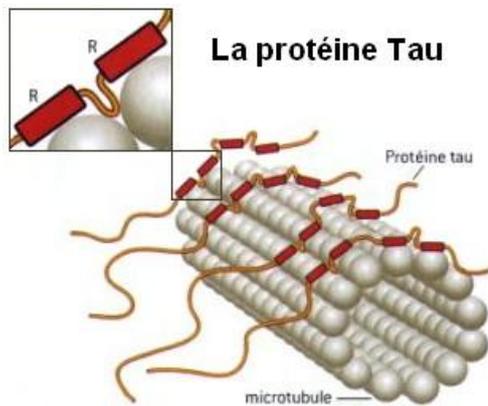
Au contact de la plaque, on a observé une augmentation du stress oxydatif et une augmentation de l'inflammation conduisant à l'apoptose des neurones adjacents. De plus, la présence des plaques amyloïdes, en favorisant l'entrée du calcium ( $Ca^{2+}$ ) dans les neurones augmenterait la phosphorylation des protéines tau intra-cytoplasmiques [10].

## 2. La dégénérescence neurofibrillaire

La dégénérescence neurofibrillaire fait partie de la cascade amyloïde. Elle est principalement composée de la protéine tau hyperphosphorylée sous forme de paires helicoïdales de filaments. Celle-ci constitue les dépôts intracellulaires de la maladie d'Alzheimer.

## 2.1. La protéine tau

C'est une protéine qui compte entre 352 et 441 acides aminés, très présente dans les neurones au niveau des axones. De structure filamenteuse, elle sert au transport intracellulaire des organites et à l'organisation spatiale de la cellule. Elle interagit avec les microtubules régulée par la phosphorylation.



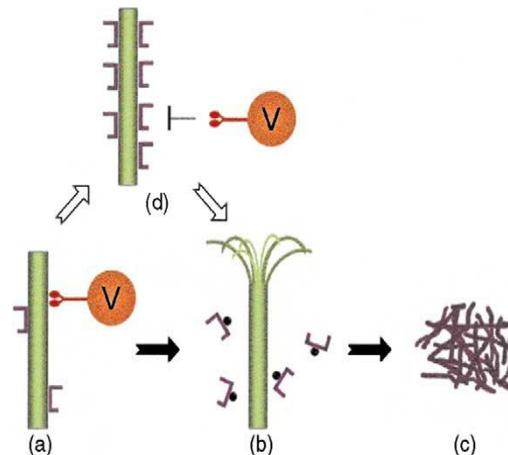
**Figure 8 :** ancrage de la protéine tau permettant la stabilisation des microtubules de façon transverse [11]

L'association de cette protéine aux microtubules favorise la polymérisation et la stabilité de ces derniers. Le gène codant de la protéine tau se trouve sur le chromosome 17. A partir de ce gène et par épissage alternatif, 6 protéines tau différentes seront formées. La protéine tau contient une région (R) de 31 acides aminés en C-terminal qui peut être répétée 3 ou 4 fois. Cette région va permettre de classer les 6 isoformes de la protéine selon deux classes. Les trois isoformes qui sont dépourvus de la séquence codée par l'exon 10 (10-), possèdent trois domaines de liaison aux microtubules (3R). On observe quatre régions répétitives (4R) pour les isoformes qui ont la séquence de l'exon 10 (10+). L'isoforme à quatre interactions présente une interaction plus forte avec les microtubules. Ceci peut moduler la longueur des extensions neuritiques, ainsi que la plasticité neuronale.

C'est en 1985 que l'on découvre son implication dans la maladie d'Alzheimer, comme constituant majeur des paires de filaments appariés conduisant à la dégénérescence neurofibrillaire [12].

## 2.2. *Hyperphosphorylation*

Les dégénérescences neurofibrillaires proviennent donc d'une accumulation intraneuronale de fibrilles formées de la protéine tau hyperphosphorylée. La phosphorylation se fait de part et d'autre des domaines de liaison aux microtubules, elle constitue la modification post-traductionnelle principale de la protéine [12]. L'hyperphosphorylation conduit au détachement de la protéine des microtubules et à leur aggrégation. Une hypothèse a été avancée proposant que cette hyperphosphorylation soit causée par un déséquilibre dans la signalisation intramoléculaire [13].



**Figure 9 :** Fonctionnement de la protéine tau dans la neurodégénération [13]

(a) Dans un axone sain, le microtubule (vert) est stabilisé par tau (violet) et sert au transport des vésicules et organites (orange).

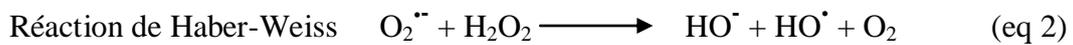
(b) L'hypothèse tau dans la maladie d'Alzheimer suppose une hyperphosphorylation de tau à un stade précoce de la dégénération neuronale. Il y a alors détachement des microtubules et arrêt du transport axonal.

(c) Tau hyperphosphorylé s'aggrège en paires de filaments appariées en hélice (PHF) qui s'unissent et forment les dégénérescences neurofibrillaires, formant des obstacles aux transports intracellulaires. Dans ce modèle, les liaisons tau-microtubules sont avantageuses parce qu'elles permettent un trafic microtubulaire-dépendant.

Les dégénérescences neurofibrillaires ne sont pas propres à la maladie d'Alzheimer et peuvent être retrouvées dans une variété d'autres désordres neurologiques tels que la trisomie 21, de nombreux syndromes parkinsoniens, la maladie de Steinert...

### 3. Le Stress oxydant et le rôle des métaux dans la maladie d'Alzheimer

Il n'existe pas encore de relation bien établie entre la voie amyloïdogénique et le développement des dégénérescences neurofibrillaires. L'hypothèse des radicaux libres a été proposée [14]. L'accumulation de ces espèces réactives oxygénées (ROS) lié à l'âge entraîne des dommages majeurs dans les cellules. Les facteurs neurochimiques responsables de ce processus pathologique lié à l'âge restent peu caractérisés. Cependant la principale origine de ces ROS est une réaction d'oxydo-réduction des molécules d'oxygène avec le cuivre et le fer [6, 15] via la réaction de Fenton et la réaction de Haber-Weiss.



Le stress oxydatif n'est donc pas à l'origine de la maladie d'Alzheimer mais il est impliqué dans l'excitotoxicité, principale cause de la mort neuronale [16].

#### *3.1. Le cuivre dans la maladie d'Alzheimer*

Le cuivre va se réduire sous l'action du précurseur de la protéine  $\beta$ -amyloïde, il va ainsi catalyser la formation des radicaux libres [14, 17].

Le cuivre se retrouve normalement en grande quantité dans le cerveau (100-150 $\mu$ M) avec quelques variations au niveau cellulaire et subcellulaire [15]. Le cuivre est nécessaire dans l'activité de diverses enzymes telles que la cytochrome C oxydase de la chaîne respiratoire et la superoxyde dismutase (SOD) liée à l'activité antioxydante. Cependant, la capacité du cuivre à se réduire est susceptible de produire des radicaux libres, toxiques pour les cellules [18].

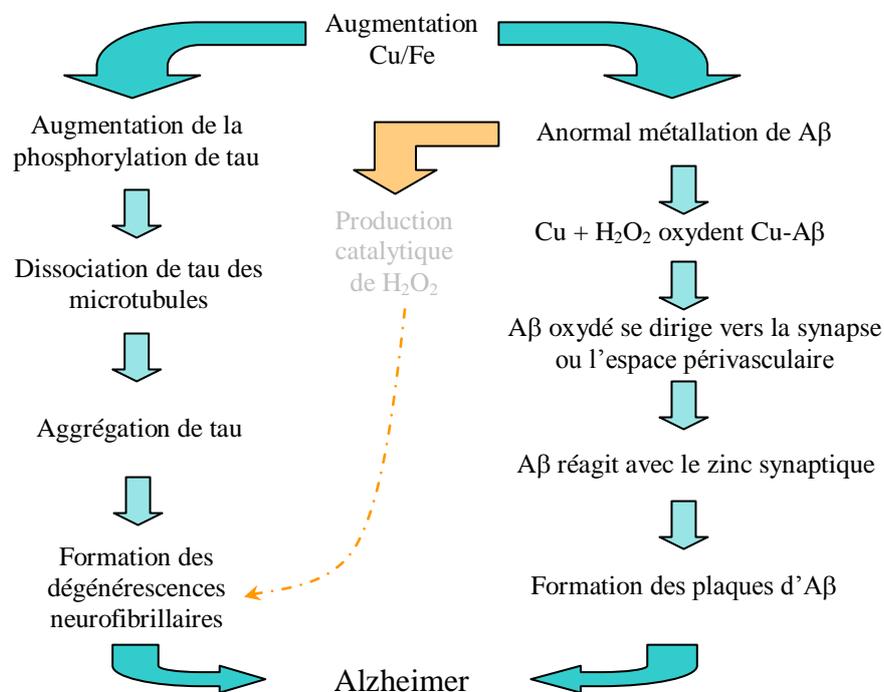
#### *3.2. Le fer dans la maladie d'Alzheimer*

Le fer se trouve en quantité élevée au niveau des plaques séniles et des agrégats neurofibrillaires. Il est responsable de la formation des radicaux HO $^\bullet$  [14, 17].

Le fer est essentiel à notre organisme, il intervient dans de nombreux processus cellulaires, il permet le transport de l'oxygène, il est donneur d'électrons et participe à la synthèse de l'ADN et des neurotransmetteurs [15]. L'organisme possède la capacité de maintenir le fer inactif, jusqu'à ce qu'il soit demandé par le métabolisme. De même que pour le cuivre un excès et/ou un dysfonctionnement de la régulation du métal conduisent à la formation des formes actives du fer (II et III) participant à la réaction de Fenton [19].

### 3.3. Interaction du cuivre et du fer avec le peptide $\beta$ -amyloïde

Des études ont montré des concentrations élevées de cuivre (400 $\mu$ M) et de fer (1mM) dans les dépôts amyloïdes [20]. Le cerveau étant un organe qui concentre les ions métalliques, on suppose qu'un dysfonctionnement de l'homéostasie de ceux-ci serait à l'origine des maladies neurodégénératives liées à l'âge [21]. Le Cu (II) et le fer (III) conduisent à l'aggrégation du peptide et à la perte des cellules neuronales par la génération des radicaux libres. La figure 10 montre l'implication et les différentes conséquences neuropathologiques du dysfonctionnement de la régulation des métaux.



**Figure 10 :** Récapitulatif de l'implication des ions métalliques dans la formation des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires [15].

Le processus de vieillissement, en relation avec la dérégulation du métabolisme énergétique, conduit à une diminution du contrôle strict de la teneur et de la distribution des ions métalliques. Leur concentration augmente avec l'âge dans de nombreux tissus et en particulier dans le cerveau. Il en résulte une métallation anormale de  $\beta A$  conduisant à la production de radicaux libres et à l'auto-oxydation du peptide  $\beta A$ . Une fois oxydé, il contribue à la formation des plaques. De plus, les métaux peuvent également intervenir dans la formation des neurofibrilles, ceci par production de  $H_2O_2$  [15].

#### 4. Les neurotransmetteurs

Les neurones sont séparés par un intervalle appelé la fente synaptique. La transmission de l'influx nerveux à travers cette synapse se fait à l'aide d'une substance chimique qui est le neurotransmetteur. Nous favoriserons la voie cholinergique car celle-ci est une cible biologique des composés que nous avons synthétisés. Quelques mots seront donnés sur la voie glutaminergique.

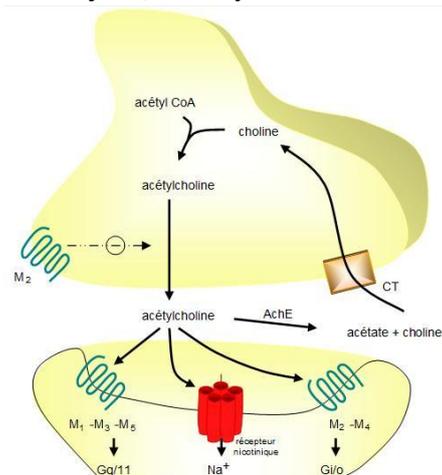
##### 4.1. *La voie cholinergique*

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par un déficit des transmissions nerveuses et notamment celles cholinergiques.

L'acétylcholine (ACh) est synthétisée dans les neurones présynaptiques à partir de la choline et de l'acétylcoenzyme A par la choline acétyl-transférase (CAT).

Le processus commence lorsque l'acétylcholine est libérée pour traverser la fente synaptique où elle se lie au récepteur de l'autre côté de la synapse. Une fois le signal déclenché, l'acétylcholine est rapidement détruite par l'enzyme, l'acétylcholinestérase, et est mise à disposition pour être recyclée.

**Figure 11 :** Synapse cholinergique [22]



## 4.2. *Inhibiteurs des cholinestérases*

Les enzymes cholinestérasiques sont de deux types :

- **Acétylcholinestérase** (AChE) connue aussi comme *cholinestérase*, *érythrocyte cholinestérase*, ou (plus formellement) *acetylcholine acetylhydrolase*, est retrouvée principalement dans le sang et au niveau des synapses neuronales
- **Pseudocholinestérase** (BChE ou BuChE), connue aussi comme *plasma cholinestérase*, *butyrylcholinestérase*, ou (plus formellement) *acylcholine acylhydrolase*, est retrouvée principalement au niveau du foie.

La différence entre les deux est leur préférence pour leur substrat respectif acétylcholine et butyrylcholine.

### **4.2.1. Acétylcholinestérase**

Une partie des fonctions du système nerveux central est contrôlée par le système cholinergique, un système de cellules produites et/ou stimulées par le neurotransmetteur, l'acétylcholine. Deux types de récepteurs, muscarinique et nicotinamique, répondent à l'acétylcholine pour faciliter la communication intracellulaire, le processus de mémorisation et les fonctions cognitives.

La mort des cellules cholinergiques est observée très tôt dans la maladie d'Alzheimer. Elle s'accompagne d'une diminution de la CAT et de l'ACh. Ce déficit cholinergique constitue la base des tentatives thérapeutiques, car ce système joue un rôle important dans le fonctionnement cognitif.

L'augmentation de l'apport en précurseur de l'ACh n'a pas apporté de résultat. La modulation de la sécrétion de l'ACh et de la stimulation des récepteurs post-synaptiques constituent à l'heure actuelle des voies de recherche. Ainsi, parmi les différentes cibles possibles, seule l'inhibition de l'acétylcholinestérase a montré des résultats.

#### **4.2.2. Butyrylcholinestérase**

La butyrylcholinestérase (BuChE) est une enzyme hydrolase très voisine de l'acétylcholinestérase. Elle est présente uniquement chez les vertébrés où son rôle physiologique reste actuellement inconnu. De plus, la BuChE est présente dans certaines zones du système nerveux central et périphérique. De récentes études supposent que l'inhibition de la BuChE peut améliorer les transmissions cholinergiques dans la maladie d'Alzheimer.

#### ***4.3. Cholinestérases et maladie d'Alzheimer***

L'hypothèse cholinergique a été présentée 20 ans auparavant. Un dysfonctionnement de l'acétylcholine au niveau des transmissions nerveuses contribuerait considérablement à la perte neuronale [23]. Les mécanismes proposés sont une perturbation de la synthèse des émetteurs, l'altération des récepteurs pré-synaptique et/ou post-synaptique enfin une dégradation des canaux ioniques (ex : les canaux calciques). La densité synaptique diminue de 25-35% au niveau du néocortex temporal et frontal 2 à 4 ans après que la maladie ait été diagnostiquée [24].

Cependant, l'origine de cette déficience cholinergique reste encore très controversée. La présence des plaques amyloïdes, connues comme modulateur cholinergique négatif, influencerait les sites de recapture de la choline. Le recyclage de cette dernière serait ainsi amoindri. La dégénérescence neurofibrillaire serait également impliquée [25].

Une étude récente a montré que les récepteurs cholinergiques et en particulier ceux de type muscarinique ont un rôle dans la protéolyse de la protéine APP et la production du  $\beta$ A. Ils seraient à l'origine de l'activation de l' $\alpha$ -sécrétase, favorisant ainsi la voie non-amyloïdogénique. Le déficit cholinergique observé dans la maladie d'Alzheimer pourrait donc favoriser la coupure de l'APP par la  $\beta$ -sécrétase et augmenter la production des plaques séniles [26].

De plus, des études de fluorescence et de dichroïsme circulaire ont montré que la formation de structures en feuillets- $\beta$  et la fibrillation du  $\beta$ A augmentaient en présence de

l'acétylcholinestérase [27]. Cette dernière est généralement colocalisée avec les plaques amyloïdes au niveau du cerveau et semblerait participer à la formation de ces dépôts.

Il semble que le système cholinergique, la génération des plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires soient étroitement liés. Cependant, la première étape à l'origine de la maladie d'Alzheimer n'est pas claire.

#### 4.4. *La voie glutaminergique*

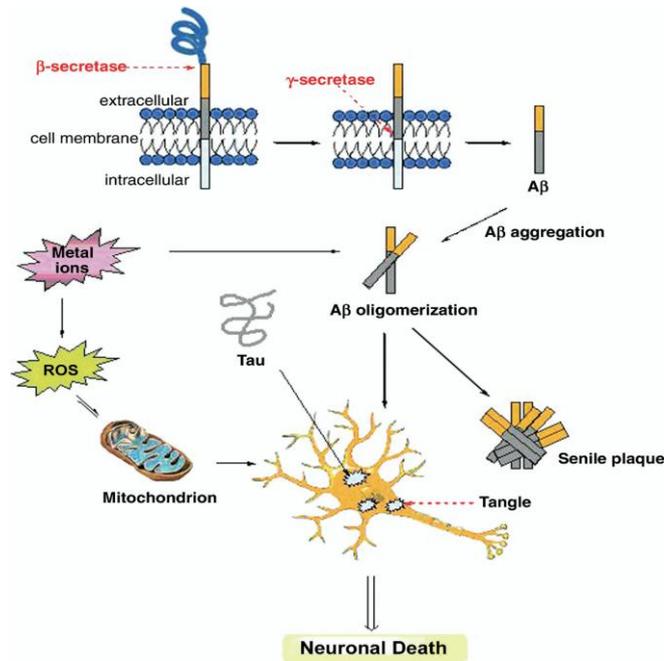
Une autre piste utilisée est celle du glutamate ou acide glutamique. Celle-ci sera décrite de façon superficielle. Ce neurotransmetteur joue un rôle important dans la liaison axone-dendrite. Les neurones à glutamate sont impliqués dans les processus cognitifs du cortex tels que l'apprentissage et la mémoire.

Lors de la maladie d'Alzheimer, des dysfonctionnements du métabolisme énergétique et des systèmes de transport du glutamate, ainsi que le stress oxydant, conduisent à l'accumulation de ce neurotransmetteur dans les synapses. Or le glutamate induit un effet neurotoxique (appelé excitotoxicité) *via* l'activation excessive des récepteurs qui lui sont associés, en particulier les récepteurs du N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA).

Cette découverte est d'ores et déjà en application puisqu'elle a donné naissance à la classe des antagonistes des récepteurs NMDA utilisés dans le traitement spécifique de la maladie d'Alzheimer (cf : 5.3.2)

## 5. Stratégies thérapeutiques

Nous avons présenté dans les parties précédentes les différents facteurs et causes de la maladie d'Alzheimer. Ceux-ci permettent de définir les stratégies thérapeutiques possibles. Le schéma 2 synthétise ces différentes cibles thérapeutiques.



**Schéma 2 :** Récapitulatif des différentes voies fondamentales reconnues dans la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer [28].

En résumé les cibles thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer sont les suivantes:

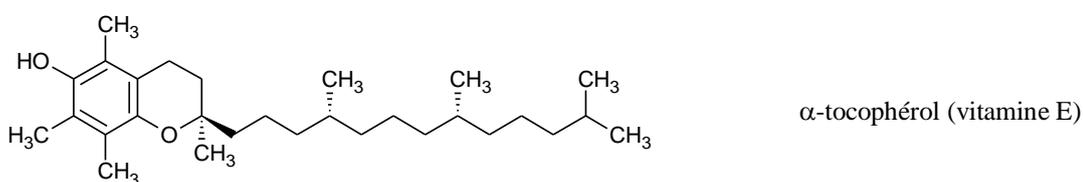
- La formation des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires
- Les ions métalliques impliqués dans l'aggrégation du peptide bêta amyloïde et la formation de radicaux libres
- Le déficit cholinergique.

Il n'existe actuellement aucun traitement permettant de guérir la maladie. Les thérapies utilisées ne visent que les symptômes. Nous nous intéresserons aux chélateurs de métaux pour les ions métalliques, les antioxydants pour les radicaux libres et les inhibiteurs d'acétylcholinestérase pour le déficit cholinergique.

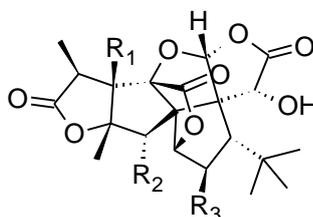
### 5.1. Le stress oxydant

Les antioxydants vont être utilisés afin de contrer les effets du stress oxydatif. Une alimentation riche en antioxydants ou la prise de compléments alimentaires peuvent être une solution.

On retrouve dans la littérature plusieurs études présentant les propriétés antioxydantes de certains composés ainsi que leurs bienfaits [14, 29, 30]. Peu d'études cliniques ont été réalisées, toutefois quelques antioxydants utilisés dans d'autres situations ont été examinés de plus près (Figure 12).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Ginkolide A	OH	H	H
Ginkolide B	OH	OH	H
Ginkolide C	OH	OH	OH
Ginkolide J	OH	H	OH
Ginkolide M	H	OH	OH



*Ginko biloba extract EGb 761 (Tanakan)*

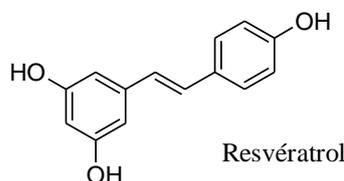
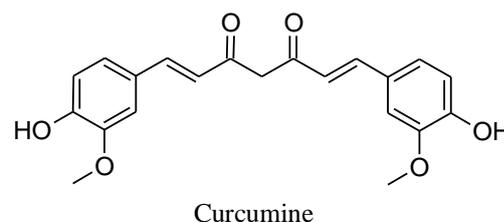
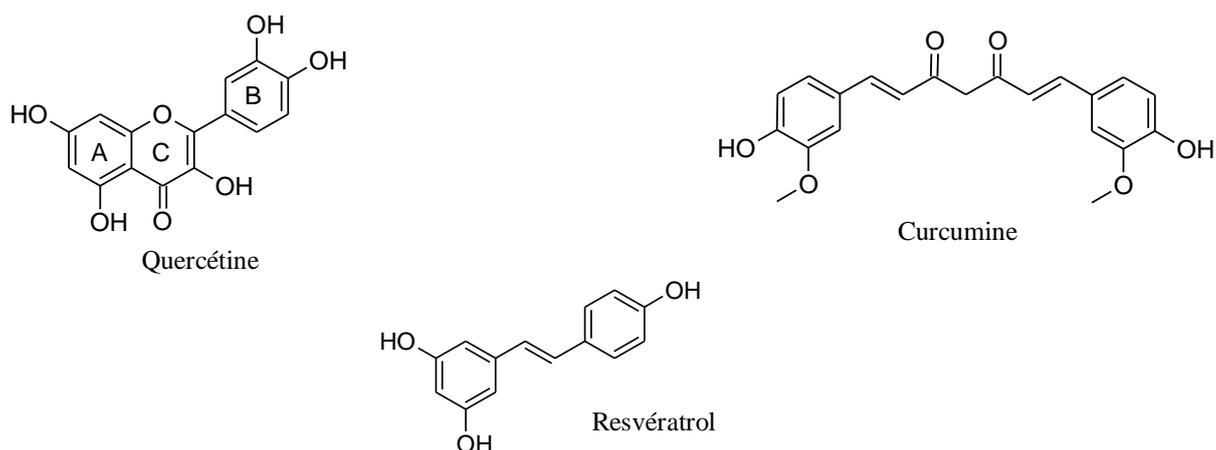
**Figure 12 :** Quelques composés actifs sur le stress oxydant

La vitamine E ralentit l'évolution de la maladie mais n'entraînent pas d'amélioration cognitive. L'extrait de ginko biloba a présenté des effets neuroprotecteurs. Il maintient ou améliore les fonctions cognitives des patients atteints de la maladie [17, 31].

On présentera ici les molécules qui ont présenté ces propriétés. Les composés seront classés selon leur mode d'action [32].

### 5.1.1. Antioxydants directs

Ils vont être actifs sur les radicaux déjà formés. Les composés les plus importants de cette famille présentent un groupement hydroxyle dans le système mésomérique. Parmi les plus connus, on retrouve la vitamine E (Figure 12), le resvératrol, la curcumine et la quercétine (Figure 13).



**Figure 13 :** Structures des antioxydants directs

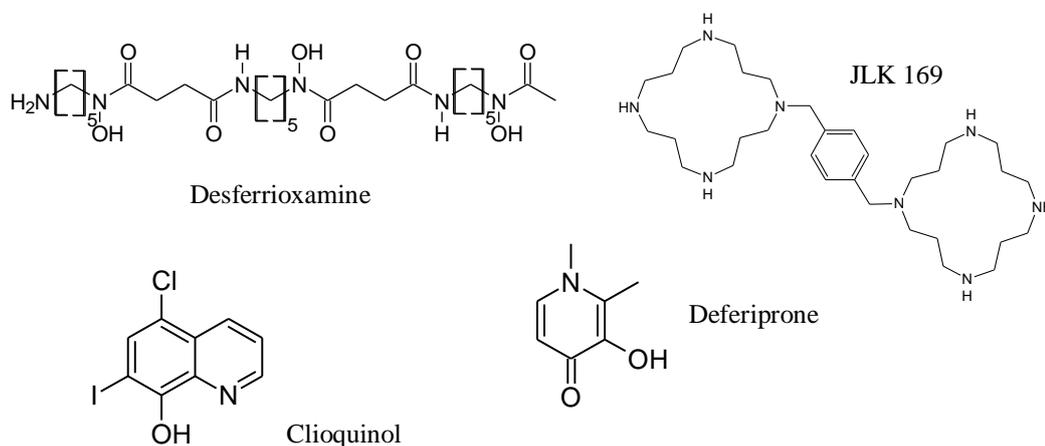
La quercétine ou 3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one fait partie de la famille des flavonoïdes. De nombreuses études *in vitro* ont permis de montrer ses propriétés antioxydantes [33]. Ces propriétés sont dues à la présence de deux motifs antioxydants, le groupement catéchol pour le cycle B et le groupement OH en position 3 des cycles A et C.

La curcumine ou 1,7-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6 heptadiène-3,5-dione est un pigment jaune du curcuma, plus communément appelé safran des Indes. Le composé est neuroprotecteur contre la toxicité du peptide A $\beta$  *in vitro* [6].

Le resvératrol ou trans-3,4',5-trihydroxystilbène est un polyphénol de la classe des stilbènes. On le retrouve dans un certain nombre de fruits tels que le raisin. Ces dernières années, des études ont présenté les propriétés neuroprotectives de ce composé sur des cellules neuronales [34].

### 5.1.2. Antioxydants indirects ou chélateurs de métaux

Les antioxydants indirects permettent la prévention du stress oxydant par chélation des métaux cités ci-dessus (Cu, Fe, ...). Celle-ci va permettre de solubiliser le peptide A $\beta$ . Les plus connus sont la desferrioxamine, le JLK 169 [35], le clioquinol [35, 36] et la déféripone (Figure 14).



**Figure 14 :** Structures des antioxydants indirects ou chélateurs de métaux

La desferrioxamine est un chélateur spécifique du fer présentant également une affinité pour le cuivre, le zinc et l'aluminium. Les études réalisées sur ce composé ont montré qu'il ralentissait la progression de la maladie. Mais ses effets secondaires tels que l'anémie et l'administration intramusculaire diminuent son intérêt [6].

La déféripone est un chélateur du fer et de l'aluminium reconnu en Europe mais pas aux Etats-Unis. Ce composé a montré une activité par administration orale et une bonne pénétration de la barrière hémato-encéphalique [37]. Cependant son utilisation a été limitée du fait de ses effets délétères sur la moelle osseuse et l'agranulocytose présentée lors des essais cliniques.

Le JLK 169 est un dérivé bicyclam (1,4-bis((1,4,8,11-tétraaza cyclotétradécane-1-yl)méthyl)benzène) chélateur du cuivre, il permet de réduire le niveau de cuivre dans le cortex cérébral et de maintenir constant son taux dans le sang [6]. Ce composé est d'un grand intérêt pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. D'autre part, il a déjà été étudié pour d'autres applications telles que le VIH, et le cancer. Il est commercialisé depuis peu sous le nom de Mozobil®. C'est un antagoniste des récepteurs CXCR4 et il est indiqué pour la mobilisation

des cellules souches hématopoïétiques. Il peut être considéré comme un traitement sûr du fait de sa faible toxicité [35].

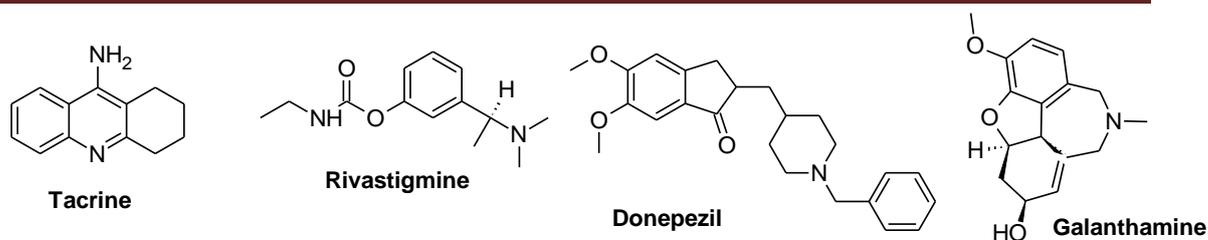
Le clioquinol est un chélateur de métaux lipophiles qui, de ce fait, possède une bonne pénétration de la barrière hémato-encéphalique. Dans un premier temps, il fut décrit comme agent anti-parasitaire [38]. C'est dans les années 60 qu'il va être corrélé avec une épidémie neurotoxique au Japon connue comme myélo-neuropathie optique [35]. Diverses études seront menées afin de montrer ses propriétés chélatrices du cuivre [36, 39]. Les premières études effectuées dans le cadre du traitement de la maladie d'Alzheimer furent réalisées sur des cerveaux malades *post-mortem*. En présence de clioquinol, il a été observé une augmentation de la solubilité du peptide A $\beta$  [15]. Une étude sur des souris transgéniques a révélé l'inhibition de la formation des plaques A $\beta$  par chélation du cuivre et du fer par le clioquinol [40]. Toutefois lors des premières études réalisées, l'administration du clioquinol a révélé un déficit en vitamine B12. Les essais cliniques sont donc effectués en contrôlant le taux des vitamines.

Les futures approches thérapeutiques concernant les chélateurs de métaux devront prendre en considération quelques problèmes majeurs notamment le passage de la barrière hémato-encéphalique ainsi que leur toxicité.

### 5.2. *Le déficit cholinergique*

Différentes approches peuvent être envisagées afin d'améliorer les transmissions nerveuses. Une de celles-ci est l'inhibition de l'acétylcholinestérase permettant ainsi d'augmenter le taux d'acétylcholine responsable du suivi de l'information. De plus des études récentes ont montré que cette enzyme pouvait jouer un rôle dans le dépôt du peptide A $\beta$  [26, 41].

Il existe de nos jours 4 inhibiteurs d'acétylcholinestérase bien connus pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ils correspondent à la tacrine (Cognex ®), le donépézil (Aricept ®), la rivastigmine (Exelon ®), et la galanthamine (Reminyl ®) (Figure 15).



**Figure 15 :** Structures des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

La tacrine (Cognex<sup>®</sup>) ou 1,2,3,4-tétrahydro-9-acridinamine-monohydrochloride, inhibiteur de l'acétylcholinestérase, correspond à une acridine passant la barrière hémato-encéphalique. Elle semble se fixer au niveau du site catalytique de l'enzyme de façon compétitive et réversible [42]. La tacrine fut le premier traitement approuvé pour la maladie d'Alzheimer pour son action sur l'AChE et la BuChE. La tacrine a été commercialisée en France sous le nom de Cognex<sup>®</sup>, son hépatotoxicité conduit à l'abandon de son usage en 2005 [43].

Le donépézil (Aricept<sup>®</sup>) ou 2-[(1-benzyl-4-pipéridyl)méthyl]-5,6-diméthoxy-2,3-dihydroindèn-1-one appartient à la famille des N-benzylpipéridines. Il a une action parasympathomimétique indirecte par son effet inhibiteur sélectif et réversible de l'acétylcholinestérase. Il a présenté de bonnes propriétés pharmacologiques notamment une forte sélectivité pour l'AChE de façon réversible et non-compétitive [44]. Il constitue une alternative à la tacrine.

La rivastigmine (Exelon<sup>®</sup>) ou (S)-N-Ethyl-N-méthyl-3-[1-(diméthylamino)éthyl]-phénylcarbamate est un carbamate appartenant à la famille des stigmines. Elle présente une activité parasympathomimétique indirecte et correspond à un inhibiteur à la fois de l'AChE et la BuChE de façon réversible. Les études réalisées sur les modèles animaux ont indiqué que la rivastigmine avait principalement une activité cholinergique centrale. Son utilisation est intéressante du fait de sa faible toxicité [45].

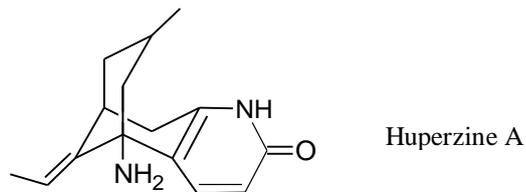
Enfin la galanthamine (Reminyl<sup>®</sup>) est un alcaloïde que l'on retrouve naturellement dans plusieurs plantes de la famille des *Amaryllidaceae*. En plus de son activité anesthésique, à concentration submicromolaire, elle permet d'augmenter la transmission cholinergique par inhibition de l'AChE et de manière plus faible sur la BuChE. Elle agit de façon compétitive et réversible. On suppose même qu'elle aurait la propriété de restaurer les transmissions

cholinergiques. Peu d'études concernant sa toxicité ont été publiées mais son action émétique correspond à son effet indésirable le plus fréquent [46].

### 5.3. *Autres cibles*

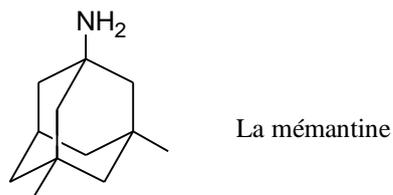
#### **5.3.1. Inhibiteur acétylcholinestérase**

Il existe un autre inhibiteur de l'acétylcholinestérase qui n'est pas actuellement commercialisé. C'est un extrait de *lycopodiaceae* (*Huperzia serrata*) utilisé depuis de nombreux siècles en médecine traditionnelle chinoise pour traiter des symptômes allant de la confusion mentale à la schizophrénie. D'origine naturelle (extrait de la plante *firmoss* *Huperzia serrata*), cette plante élabore un alcaloïde particulier appelé huperzine A. Sa fixation aux acétylcholinestérases est réversible.



#### **5.3.2. Récepteurs glutaminergiques**

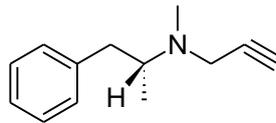
La mémantine (Exiba<sup>®</sup>) est un antagoniste non compétitif des récepteurs glutaminergiques du type N-méthyl-D-aspartate (NMDA). Ces récepteurs interviennent dans le développement des synapses et au niveau des phénomènes de mémorisation et d'apprentissage. Les récepteurs NMDA sont essentiellement postsynaptiques et très largement répandus dans tout le système nerveux central.



La mémantine agit sur le système glutaminergique en s'opposant aux phénomènes de destruction neuronale survenant au cours de la maladie d'Alzheimer. Les cellules endommagées libèrent des quantités excessives de glutamate, conduisant à la dégénérescence des neurones. La mémantine rentre en compétition avec le glutamate et inhibe ainsi le récepteur NMDA.

### **5.3.3. Monoamine-oxydase B**

La sélégiline, connue sous le nom Déprényl<sup>®</sup> ou Otrassel<sup>®</sup> est habituellement prescrite pour traiter les difficultés motrices de la maladie de Parkinson. Il s'agit d'un inhibiteur sélectif et puissant de la monoamine-oxydase B (MAO-B). La sélégiline permet d'empêcher la dégradation de la dopamine et favorise également la production de superoxyde dismutase (SOD) qui est un antioxydant puissant.



Sélégiline

# **CHAPITRE II**

## **Le noyau quinoléique**

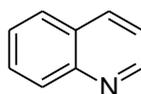
## I. Quinoléines

L'un des axes de recherche développé au sein du laboratoire de chimie organique et thérapeutique consiste en la conception et la synthèse de nouveaux dérivés hétérocycliques et d'évaluer leur propriétés antioxydantes. C'est en se basant sur les travaux précédemment réalisés que nous avons synthétisé plusieurs séries de dérivés quinoléiques [47]. Les quinoléines représentent une classe importante de molécules possédant diverses propriétés biologiques. Nous avons vu précédemment l'utilisation du clioquinol comme chélateur de métaux. De plus nous avons voulu élargir les propriétés thérapeutiques de ces quinoléines en étudiant leur activité potentielle contre les cholinestérases. Propriétés déjà connues pour cette classe de composés (par exemple : la tacrine et l'huperzine A).

La première partie qui suit, va introduire les quinoléines de façon générale. Nous décrirons leurs origines et leurs propriétés biologiques (la description des composés et de leur activité ne sera pas exhaustive). Nous étudierons également quelques réactions classiques et leur mécanisme pour la formation du noyau quinoléique. Dans une deuxième partie, nous axerons la bibliographie sur notre projet de recherche. Nous ciblerons en particulier les quinoléines décrites dans la littérature pouvant intervenir au niveau du système nerveux central et dont les structures sont analogues à nos composés. Enfin, nous terminerons par la description des étapes clés de la synthèse de nos composés.

### 1. Généralités

La structure de la quinoléine correspond à la juxtaposition d'un noyau pyridinique et d'un noyau benzénique (Figure 16). Elle fut pour la première fois obtenue à partir du goudron de houille au XIX<sup>ème</sup> siècle.

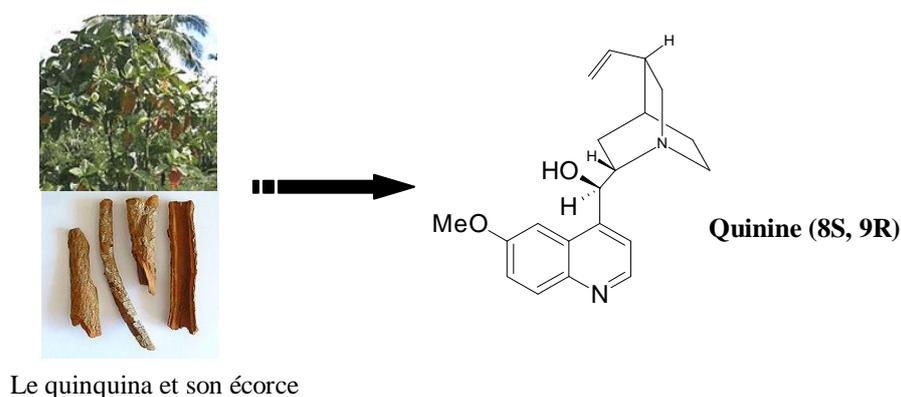


**Figure 16 :** La quinoléine

Ce motif constitue la structure principale d'un grand nombre de molécules présentant divers intérêts thérapeutiques. On les retrouve comme anti-paludéen, anti-inflammatoire, anti-bactérien, anti-asthmatique et anti-hypertensif. Les quinoléines représentent une classe

hétérocyclique très importante. Les chimistes se sont donc tournés vers la recherche active de nouveaux dérivés.

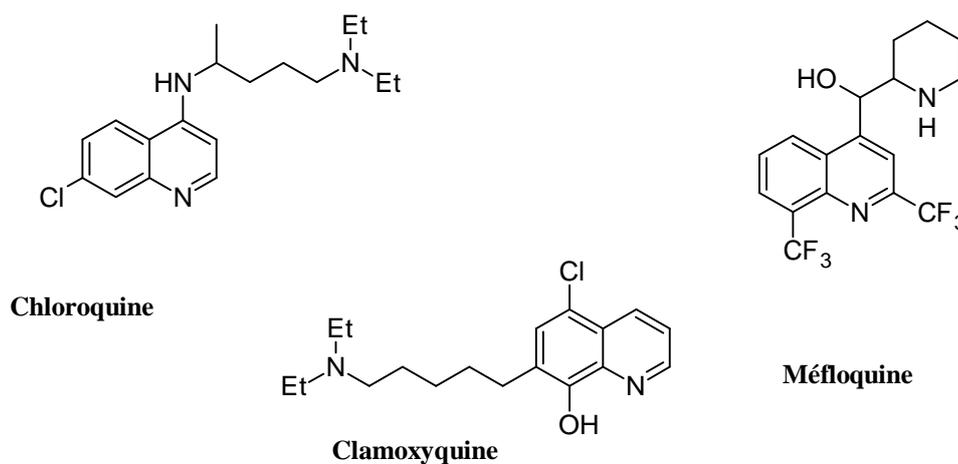
Cet intérêt s'est développé dès l'utilisation de la quinine au XVII<sup>ème</sup> siècle pour le traitement du paludisme. La quinine est extraite de l'écorce du quinquina, arbre originaire de l'Amérique du sud (Figure 17).



**Figure 17 :** Représentation du quinquina et de la quinine

La structure chimique ne sera connue qu'en 1908 et sa synthèse totale réalisée en 1944. Cependant la quinine reste produite à partir du quinquina en raison de son moindre coût par rapport à la synthèse [48].

Suite à la découverte de la quinine, divers équivalents synthétiques ont été développés (figure 18).

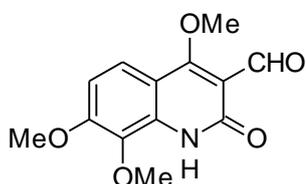


**Figure 18 :** Représentation d'équivalents synthétiques de la quinine

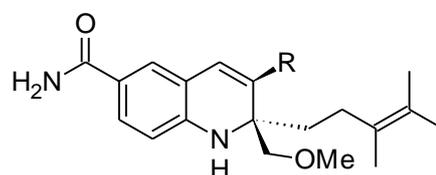
Cependant, l'activité des quinoléines ne se limite pas au traitement du paludisme. La littérature nous a révélé que les dérivés quinoléiques possèdent différentes activités biologiques telles qu'antimycobactériens, antitumoraux, antidépresseurs et antibactériens. De nombreux noyaux quinoléiques sont retrouvés parmi les antibiotiques. La liste des composés qui suit n'est évidemment pas exhaustive.

## 2. Sources et intérêts

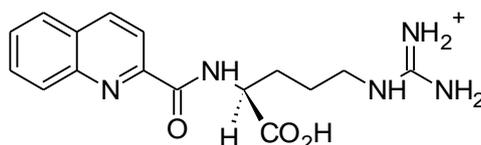
De nouvelles molécules contenant le noyau quinoléique sont découvertes chaque année. Elles peuvent être d'origine végétale (1), microbienne (2) ou animale (3) [49]. Ces quinoléines naturelles présentent des activités biologiques très diverses. La glycocitridine (1) s'est révélée inhibiteur des cellules leucémiques. Les benzastatines (2) ont une faible activité contre la lipoperoxydation par rapport à la vitamine E. En revanche elles se sont révélées inhibitrices du glutamate de façon comparable à la vitamine E [50]. Le composé 3 est, pour sa part utilisé comme nourriture dissuasive contre les fourmis [49].



**Glycocitridine**  
extrait des feuilles de *Glycosmis*  
*citrifolia* (1) Anticancéreux



**Benzastatine C** R = Cl ;  
**Benzastatine D** R = OH  
Obtenu à partir de *streptomyces nitrosporeus* 30643 (2)  
Antioxydant

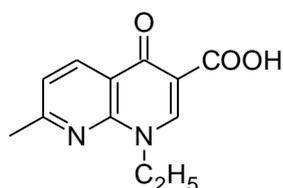


**(+)-N $\alpha$ -quinaldyl-L-arginine**  
obtenu à partir de la coccinelle *subcoccinella 24-punctata* (3)  
Répulsif pour fourmis

Les quinoléines naturelles ou de synthèses qui seront présentées dans les parties qui suivent ne constitueront qu'une infime partie des quinoléines actives. Nous présenterons quelques composés commerciaux et ciblerons des quinoléines carbohydrazides, des quinoléines N-alkylées et des structures polycycliques récemment décrits. Ces différents composés ont présenté des activités très diverses. Pour les plus importantes, on retiendra leur action antibiotique et leur potentiel anticancéreux.

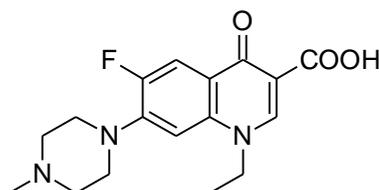
### 2.1. Antibiotiques

Introduit en 1965, l'acide nalidixique est un antibiotique de la classe des « quinolones ».



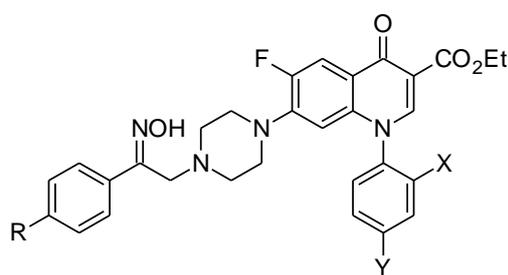
Acide nalidixique : NEGRAM

Celui-ci constitue le chef de file historique des « quinolones », l'atome d'azote y est généralement substitué, de même l'hétérocycle aromatique peut être remplacé par un cycle benzénique. Après incorporation d'un atome en position 6, plusieurs composés sont développés. En 1985, apparaît les fluoroquinolones (péfloxacin, norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, enoxacin...). Ces derniers se caractérisent par une activité bactéricide à la fois plus rapide et plus puissante.



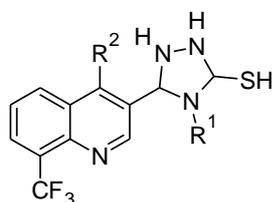
Péfloxacin : PEFLACINE

Le groupe de Chen a synthétisé des dérivés de quinolones substitués en position 7 [51]. Pour ces composés, leur activité antibactérienne et leur cytotoxicité ont été évaluées.



7-substitué-quinolinone

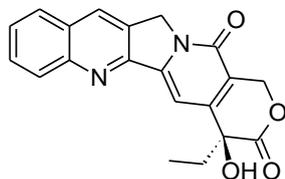
Une autre série de dérivés quinoléiques portant un groupement 1,2,4-triazole a montré une activité antimicrobienne intéressante [52].



**Dérivés quinoléiques**  
 $R^1$  = amines substituées  
 $R^2$  = PH, BZ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$

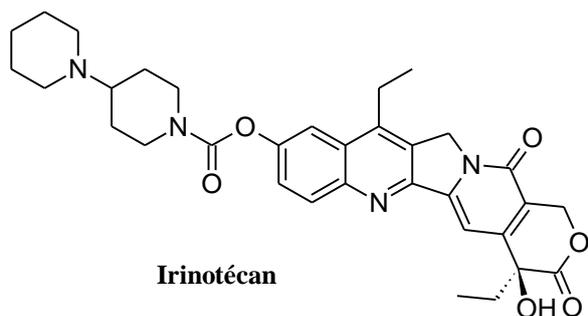
## 2.2. Anticancéreux

Divers composés naturels ou issus de l'hémisynthèse sont connus pour être des agents anticancéreux. La camptothécine est un alcaloïde extrait pour la première fois de l'écorce d'un arbre chinois, *Camptotheca acuminata*, *Nyssaceae*. Celle-ci est active comme antitumoral et inhibe l'action de la topoisomérase I. Suite à des effets indésirables sévères, son développement a été arrêté en phase II lors des essais cliniques.

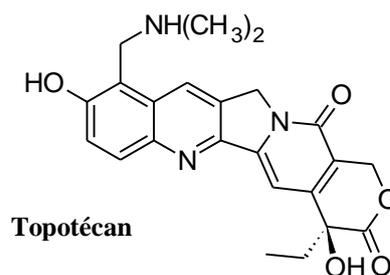


**Camptothécine**

En raison de son intérêt pharmacologique, d'autres composés ont été développés. L'irinotécan et le topotécan. L'irinotécan est obtenu par hémisynthèse à partir de la camptothécine en 1983 [53], il est utilisé sous la dénomination de Campto<sup>®</sup>. En 1989, est obtenu un deuxième dérivé hémisynthétique de la camptothécine. Le topotécan est commercialisé sous le nom d'Hycamtin<sup>®</sup> [54].

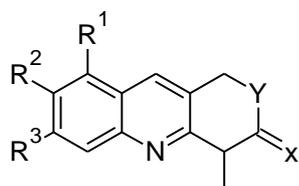


**Irinotécan**



**Topotécan**

De nouveaux homologues inhibiteurs de la topoisomérase sont développés. Parmi ceux-ci, citons la synthèse de composés combinant la quinoléine au 1,4-dioxane (4) [55].

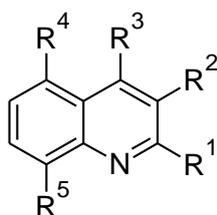


**2,3-dihydro-1,4-dioxino[2,3-g]quinoline (4)**

Le groupement 1,4-dioxane peut être placé en R<sup>1</sup>-R<sup>2</sup> ou R<sup>2</sup>-R<sup>3</sup> conférant ainsi à la molécule une forme linéaire ou coudée

2.3. *Autres activités*

Des séries de quinoléine-carbohydrazides [56] quinoléine-carbohydrazones [57] ont été synthétisées par des groupes de recherche en Inde. Ces composés ont révélé des activités antimycobactériennes.

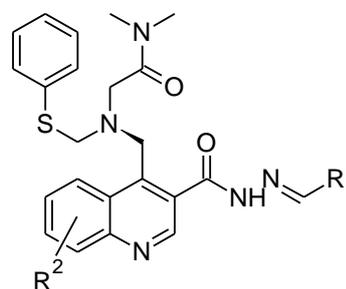


**Quinoléine-carbohydrazides**

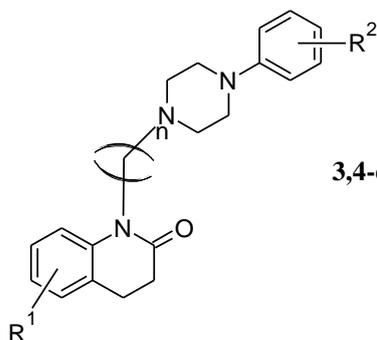
Plusieurs composés ont été synthétisés en faisant varier les différents substituants. Ceux-ci peuvent être des aromatiques ou des formylhydrazides.

**Quinoléine-carbohydrazones**

Les groupements R<sup>2</sup> sont des fluorures ou des CF<sub>3</sub>. Le groupement R<sup>1</sup> correspond principalement à un phényle possédant ou non différents substituants.



On peut également trouver des antidépresseurs possédant un noyau quinoléique. C'est le cas de dérivés 3,4-dihydro-2(1H)-quinolinones [58].



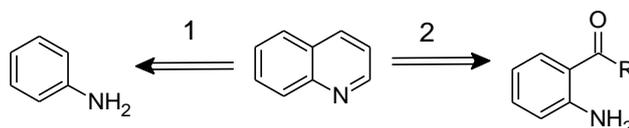
**3,4-dihydro-2(1H)quinolinone**

En conclusion, il apparaît que l'activité la plus importante des quinoléines est leur action antibactérienne. Nous n'avons décrit dans cette partie qu'un aperçu de tous les dérivés quinoléiques dotés de propriétés biologiques. Nous allons développer à présent les voies d'accès classiques au noyau quinoléique.

### 3. Voie d'accès

Les méthodes pour accéder aux quinoléines sont diverses et nombreuses. Ne seront rassemblées dans cette partie que les plus représentatives.

Le schéma 3 expose la rétrosynthèse du squelette quinoléique et les différentes voies de préparation.



**Schéma 3 :** rétrosynthèse du noyau quinoléique

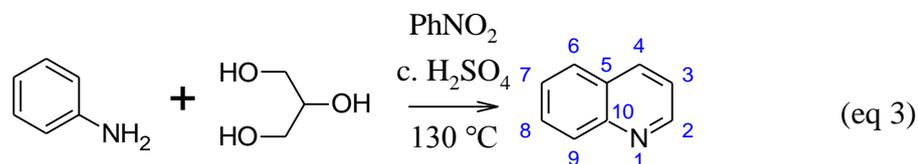
On distingue principalement deux grandes voies de synthèse. La première implique la condensation d'une aniline et la seconde celle d'une aniline *ortho*-substituée.

#### 3.1. *A partir de l'aniline*

La condensation doit se faire en présence d'un ou plusieurs réactifs qui apportent les trois carbones manquant à la formation de l'hétérocycle condensé. On trouve les synthèses de Skraup, Conrad-Limpach et Combes.

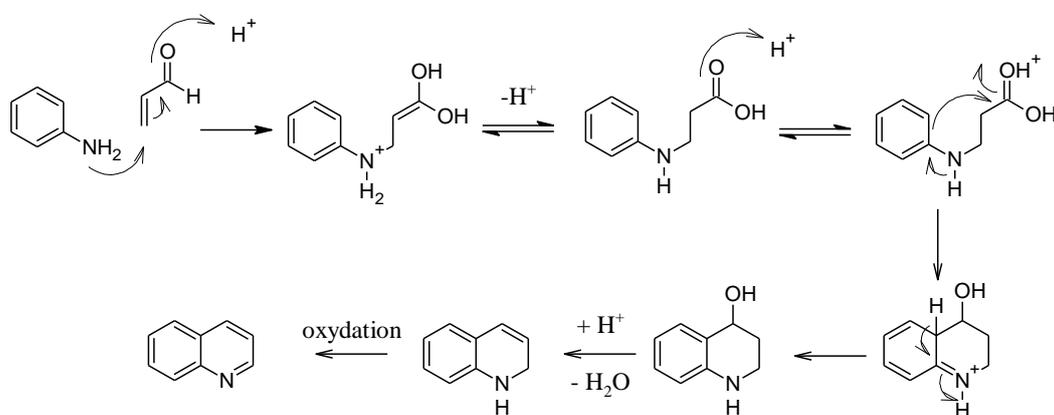
### 3.1.1. Réaction de Skraup

Cette méthode généralement utilisée pour la synthèse des quinoléines se fait entre une aniline et le glycérol chauffés en présence d'un oxydant en milieu acide. Cette réaction fut écrite par Skraup en 1880. On obtient pour cette réaction des rendements plutôt faibles [59].



La nature d'un éventuel substituant sur le noyau aromatique peut influencer la réactivité. Un substituant électrophile favorise la formation des quinoléines substituées en 6, alors qu'avec un substituant nucléophile la substitution en 8 sera dominante.

La synthèse de Skraup commence dans un premier temps par la déshydratation in situ du glycérol pour donner l'acroléine. Cette dernière s'additionne sur l'aniline. On obtient une 1,2-dihydroquinoléine. Celle-ci est facilement oxydée et aromatisée en présence d'un oxydant doux (ex : nitrobenzène).

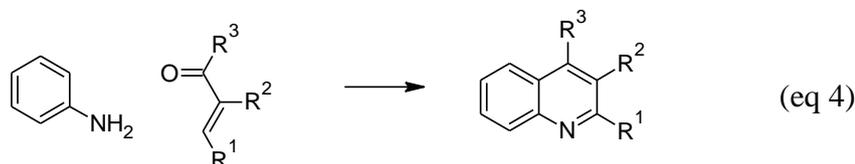


**Schéma 4 :** Mécanisme de la synthèse de Skraup

L'acroléine ne peut pas être utilisée directement dans cette réaction car elle se polymérise aussitôt en milieu fortement acide, ce qui explique sa préparation in situ. Les acides qui sont utilisés sont les acides sulfurique ou phosphorique. De plus, les oxydants couramment employés sont les dérivés nitrés correspondant aux amines employées (ex :

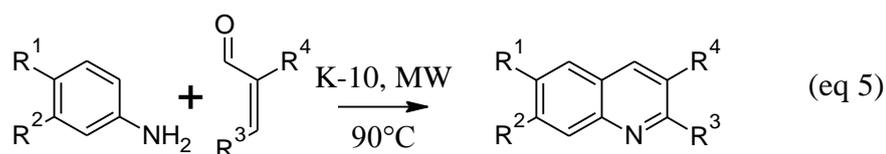
l'oxydant de l'aniline est le nitrobenzène). Ainsi après avoir joué le rôle d'oxydant, le dérivé nitré est réduit en l'amine utilisée dans la condensation.

Par la suite, Doebner et Von Miller ont remplacé le glycérol par une cétone  $\alpha,\beta$ -insaturée [60, 61].



Depuis quelques années, diverses modifications ont été faites afin d'améliorer le rendement et la reproductibilité de la réaction de Skraup. L'utilisation de différents modérateurs tels que l'acide borique ou l'oxyde de vanadium permettent d'augmenter les rendements de la réaction [62]. Lorsque celle-ci est faite sous pression on obtient de meilleurs rendements. On réduit ainsi les quantités d'acide sulfurique utilisées et on abaisse la température [63].

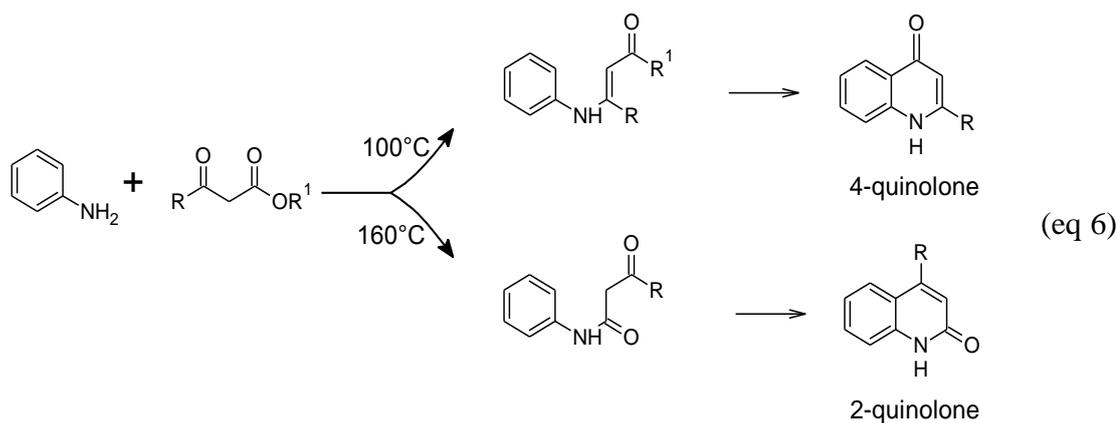
Une variation de la réaction de Skraup a été récemment décrite. La réaction est réalisée en présence d'un éther couronne. Le temps de réaction est minimisé par l'utilisation des micro-ondes [64].



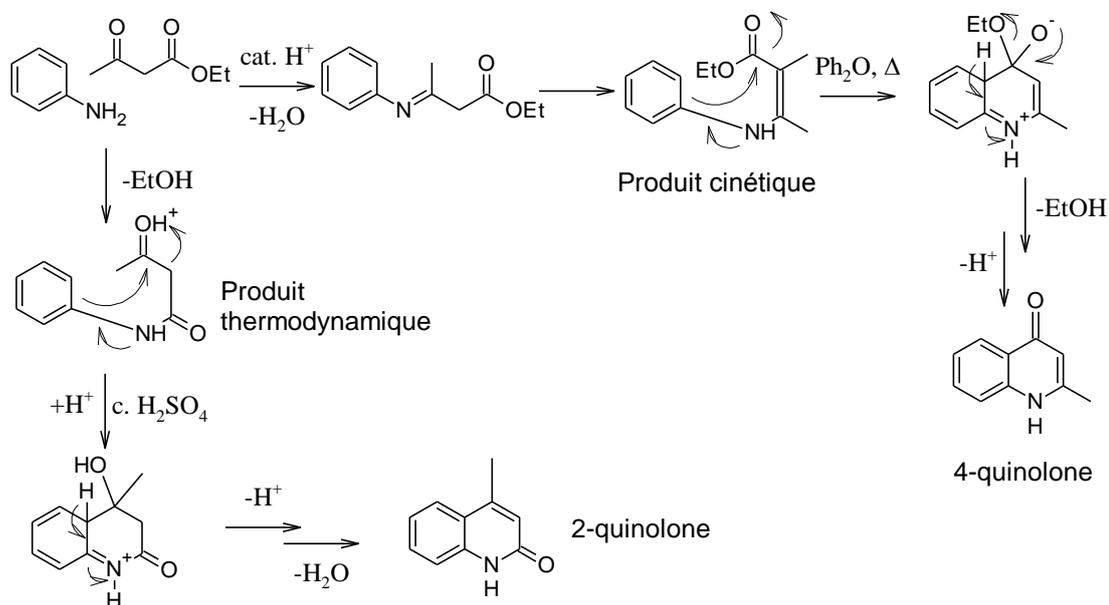
### 3.1.2. Réaction de Conrad-Limpach

L'utilisation pour cette réaction d'un  $\beta$  céto-ester conduit à la formation de deux quinolones selon les conditions réactionnelles.

Lorsque l'aniline est chauffée à 100°C en présence du  $\beta$  céto-ester, se forme alors le 3-anilinoacronate qui est converti en 4-quinolone. C'est la synthèse de Conrad-Limpach [65]. Dans le cas où la température de la première étape passe à 160°C, l'intermédiaire est un acétoacétanilide qui cyclise en 2-quinolone.



Lorsque la température est de 160°C le produit thermodynamique se forme rapidement à condition que l'eau formée soit éliminée.

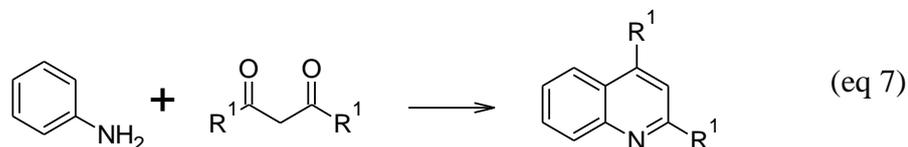


**Schéma 5** : Mécanisme de la réaction de Conrad-Limpach

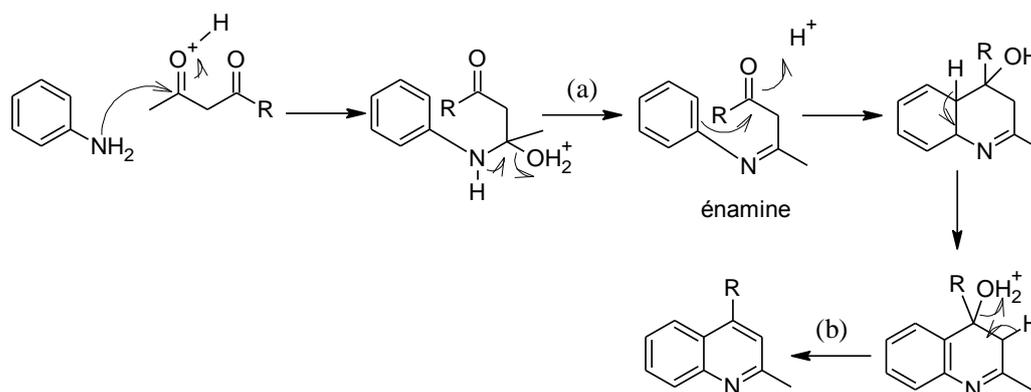
De nos jours, cette réaction est toujours d'actualité. On la retrouve comme première étape de la synthèse de composés agrochimiques [66].

### 3.1.3. Réaction de Combes

Lorsque l'aniline réagit avec une 1,3-dicétone en présence d'un acide fort, le résultat est une quinoléine substituée en 2 et 4 [67].



Le mécanisme est présenté dans le schéma ci-après. Il implique deux étapes clés : (a) la condensation de l'aniline avec la cétone pour donner l'énamine comme intermédiaire et (b) la cyclodéshydratation formant la quinoléine.



**Schéma 6 :** Mécanisme de la réaction de Combes

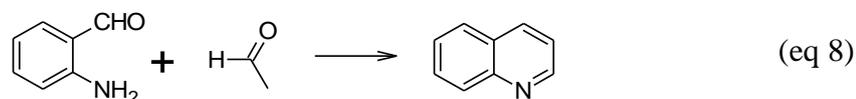
La réaction de Combes peut se rapprocher de celle de Conrad-Limpach. On la retrouve aussi dans la littérature récente comme étape de synthèse totale de pyranoquinoléines [68] ou pour la formation de nouveaux produits cyclisés à partir d'aminonaphtyridinones [69].

### 3.2. A partir de l'ortho-aniline

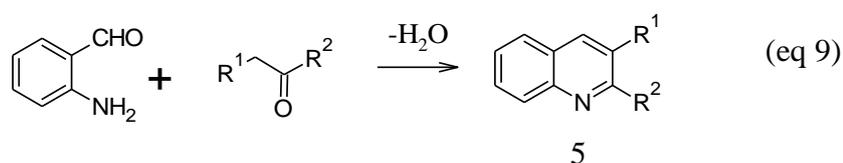
L'aniline doit dans ce cas réagir avec une entité possédant les deux carbones manquant à la formation du bicyclic. On trouve les synthèses de Pfitzinger, Friedländer et Niementowski.

### 3.2.1. Réaction de Friedländer

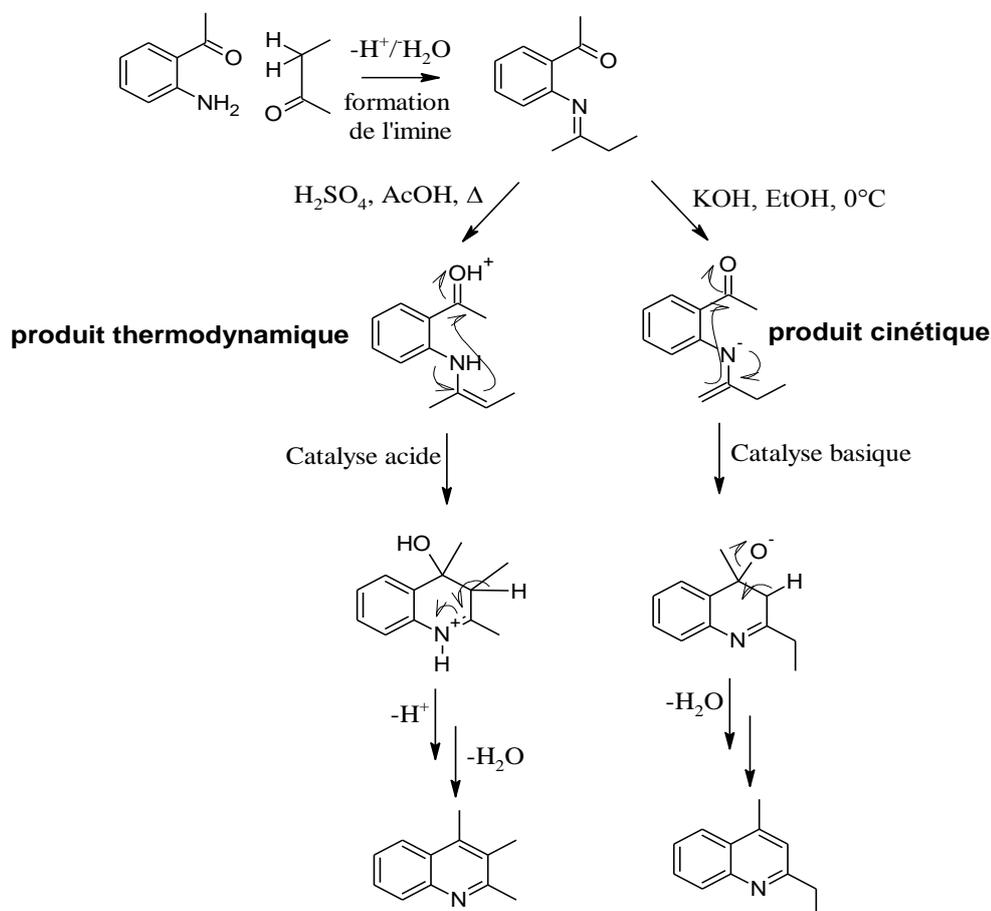
La première synthèse réalisée par le chimiste allemand Paul Friedländer impliquait le 2-aminobenzaldehyde et l'éthanal [70].



Cette réaction fut ensuite étendue à d'autres dérivés aldéhydiques permettant d'accéder à toutes les quinoléines de type 5.



Des conditions acides et une température élevée conduisent au produit thermodynamique alors que des conditions basiques à froid donnent le produit cinétique.



**Schéma 7 :** Mécanisme de la réaction de Friedländer

La réaction de Friedländer est la méthode la plus largement utilisée dans la synthèse actuelle du motif quinoléique [71].

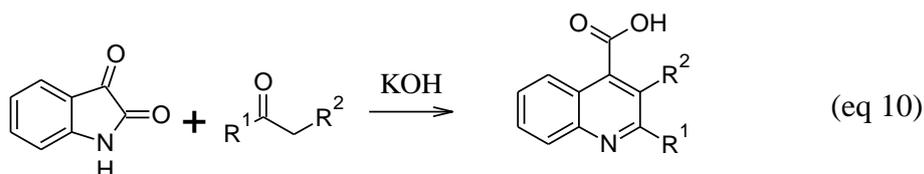
Cependant les premières méthodes employées ne sont pas avantageuses du fait de conditions drastiques, des temps de réaction long pour de faibles rendements. Diverses variations de la méthode ont donc été appliquées. Certaines se sont orientées dans le développement de catalyseurs acides [72-74]. D'autres développent des conditions « vertes » avec des catalyseurs d'or [73].

Les réactions de Pfitzinger et Niementowski peuvent être considérées comme des extensions de la réaction de Friedländer. La différence entre ces réactions se trouve au niveau des réactifs. La réaction de Pfitzinger utilise une isatine et la réaction de Niementowski fait réagir l'acide anthranilique.

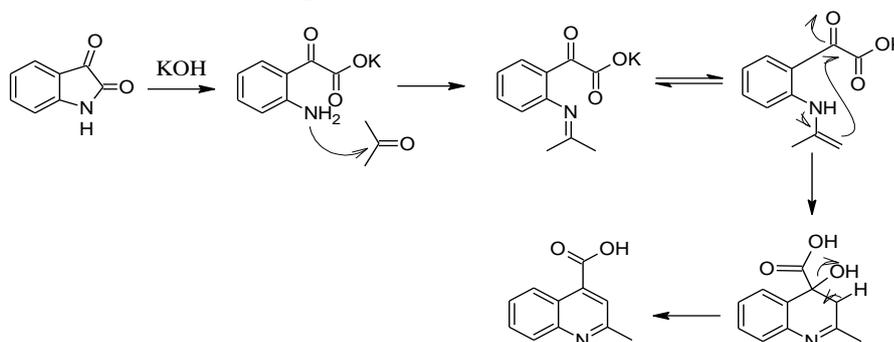
N.B. : la réaction de Niementowski sera développée en section 3.

### 3.2.2. Réaction de Pfitzinger

C'est une réaction d'extension de cycle réalisée à partir de l'isatine en milieu basique [75]. Cette réaction est limitée par le nombre peu élevé de dérivés isatiniques.



La réaction de Pfitzinger implique la formation initiale d'une base de Schiff qui évolue en quinoléine après une réaction aldolique intramoléculaire.

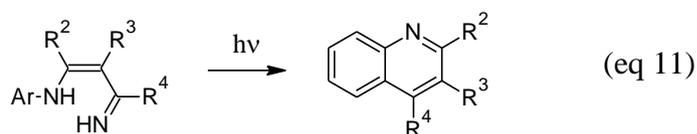


**Schéma 8 :** Mécanisme de la réaction de Pfitzinger

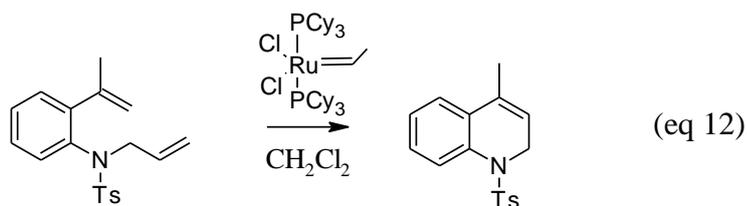
La réaction de Pfitzinger est utilisée pour la préparation d'intermédiaire dans la synthèse de dérivés de la camptothécine, ou d'inhibiteurs potentiels de la capsase-3 [76, 77]. De plus de nouvelles études ont mis en évidence de nouvelles perspectives d'utilisation de cette méthode [78, 79].

### 3.3. *Développements récents*

Les méthodes présentées ci-dessus ne sont pas exhaustives. Il est ici mis en évidence deux autres méthodes innovantes et prometteuses dans la formation du noyau quinoléique. La première est une réaction « one pot » utilisant des irradiations [80].

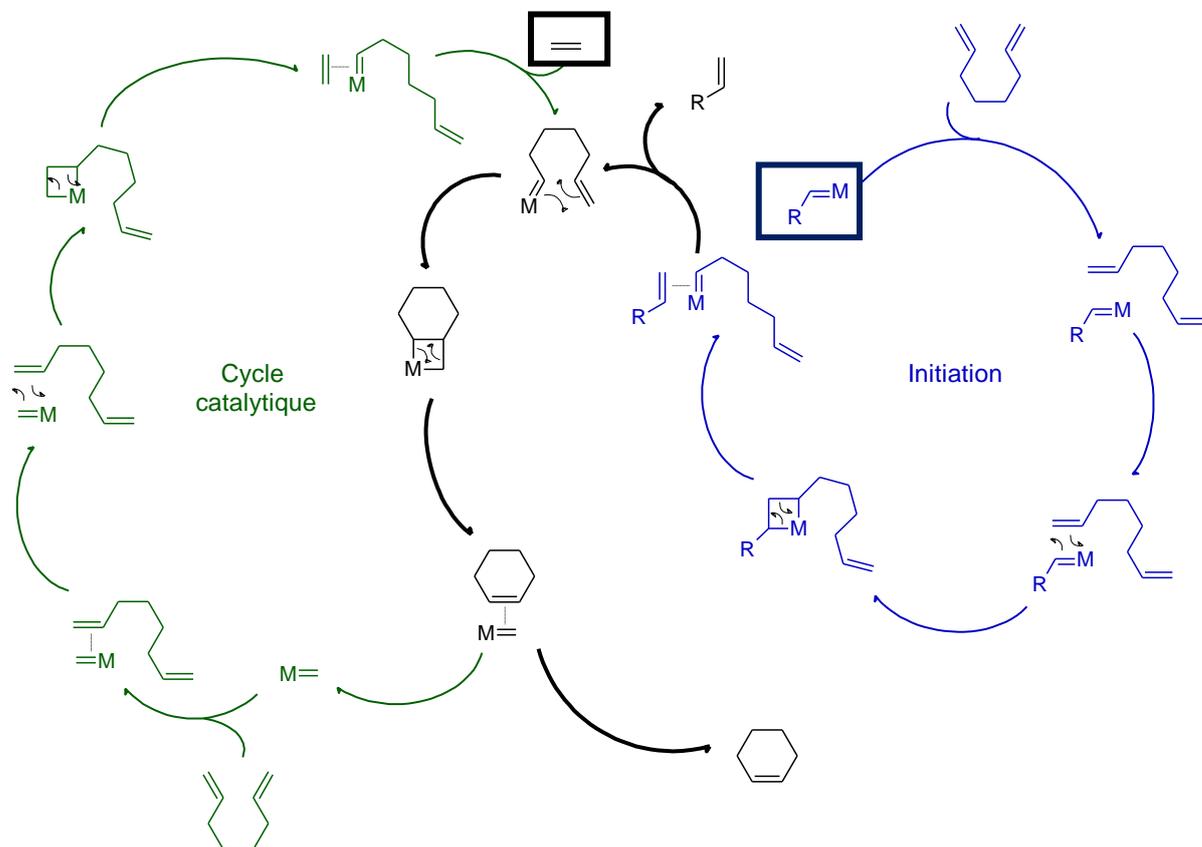


La seconde est une fermeture du cycle formant la quinoléine par métathèse [81].



La réaction de métathèse cyclisante (ring closing metatesis RCM) est une version intramoléculaire des oléfines. Elle permet de construire des cycles de 5 à 30 chaînons et tolère un grand nombre de groupements fonctionnels, ce qui en fait un outil très utilisé en synthèse organique.

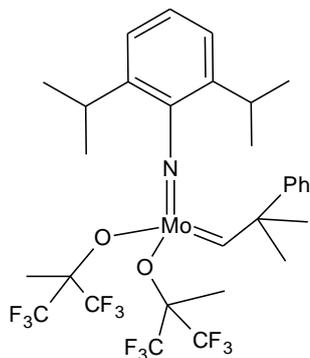
A la fin des années 60, la réaction de métathèse était bien mystérieuse et si des idées de mécanismes étaient avancées, elles ne collaient pas avec certains faits expérimentaux. C'est en 1971 qu'Yves Chauvin publie sa proposition de mécanisme.



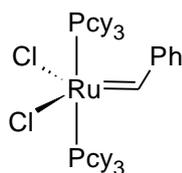
**Schéma 9 :** mécanisme de la métathèse cyclisante

Il comporte une séquence de cycloadditions / cycloréversions [2+2] mettant en jeu des alcènes, des carbènes métalliques ainsi que des intermédiaires de type métalocyclobutane. Chaque étape de ce mécanisme est réversible. L'équilibre est déplacé grâce à la production d'une molécule volatile, l'éthylène. La réaction est donc entropiquement favorisée .

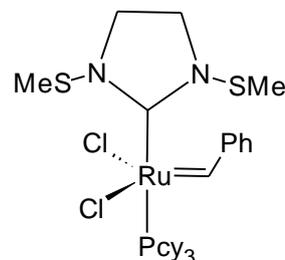
Il existe de nombreux types de catalyseur capable de réaliser la métathèse des oléfines, ils diffèrent par la nature du métal du complexe (Mo, Pd ou Ru). Les plus communs sont des catalyseurs à base de ruthénium mis au point par Grubbs [82].



Catalyseur de Schrock



Catalyseur de Grubbs de première génération  
Grubbs I



Catalyseur de Grubbs de seconde génération  
Grubbs II

Même si le mécanisme décrit par Chauvin est accepté par la communauté scientifique, des études mécanistiques ont permis de révéler certains détails. En particulier, la première étape du mécanisme consiste en la dissociation d'un ligand phosphine, ce qui permet la génération d'une espèce carbénique active.

Malgré ces nombreuses études mécanistiques, les détails de la réaction de métathèse par les catalyseurs au ruthénium ne sont pas encore complètement élucidés.

## II. Projet de recherche

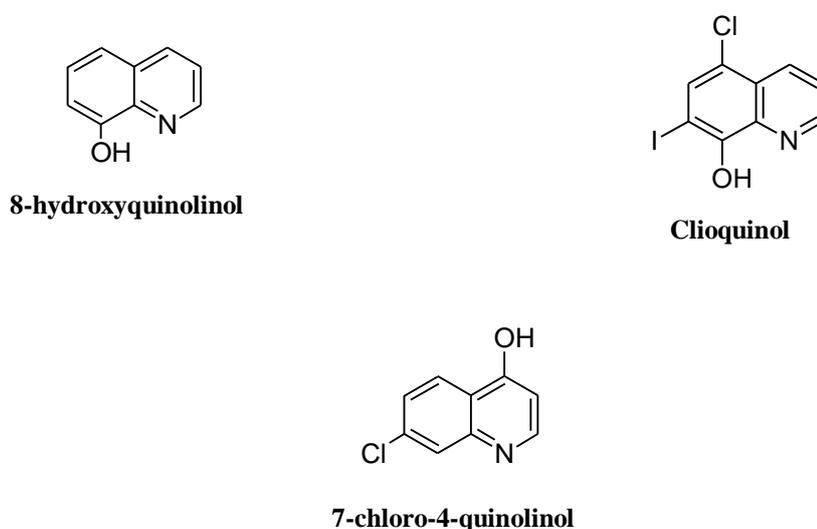
### 1. Quinoléines et système nerveux central

#### 1.1. *Les antioxydants et chélateurs de métaux*

Diverses théories sont développées pour expliquer le mécanisme moléculaire lié à l'âge. Parmi celle-ci, intervient la production d'espèces réactives oxygénées [83]. Le développement de composés antioxydants ou chélateurs de métaux constituent une stratégie dans le processus de vieillissement.

Plusieurs études ont été réalisées sur les hydroxyquinoléines et leurs dérivés. Ces composés ont montré une activité antioxydante et des propriétés chélatrices du fer [84].

Les hydroxyquinoléines (figure 19) les plus connues sont le 8-quinolinol utilisé dans le traitement du cancer du sein [85], le clioquinol présenté ultérieurement pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et le 7-chloro (fluoro)-4-quinolinol utilisé comme anticancéreux en phase clinique en Chine [86].



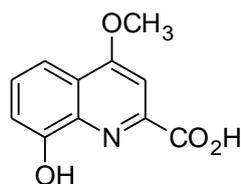
**Figure 19 :** Hydroxyquinoléines les plus courantes

Le composé 8-hydroxyquinolinol forme un complexe stable avec le fer (III). Celui-ci peut-être lié de façon mono, bis ou tris selon le pH et le ratio ligand/métal.

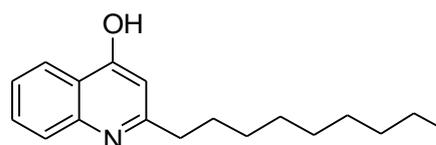
Le 8-hydroxyquinolinol est un sidérophore naturel appartenant à la famille pyoverdine issu de la bactérie *Pseudomonas fluorescens*. Le sidérophore est un élément chimique sécrété

par les micro-organismes et capable de chélater l'ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Les sidérophores solubilisent les ions ferrique en formant des complexes.

Parmi les sidérophores naturels identifiés, les pyoverdins issus de la bactérie *pseudomonas fluorescens* sont les plus importants. Les pyoverdins sont caractérisés par une chaîne peptidique et un chromophore fluorescent dérivé du 2,3-diamino-6,7-dihydroquino (ex : la quinolobactine et la pseudan)

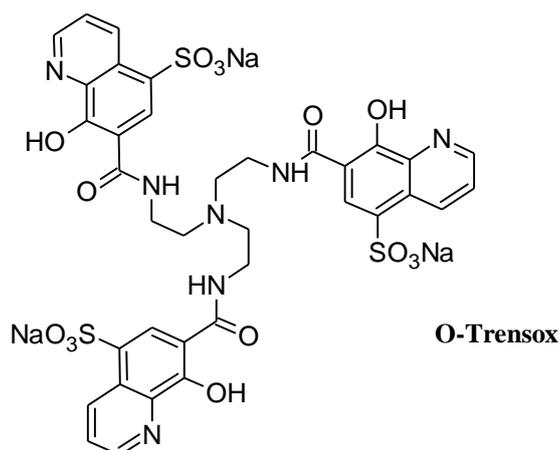


**Quinolobactine**



**Pseudan**

Il existe également des composés de synthèse tel que le O-Trensox possédant des propriétés chélatrices du fer prometteuses [87].



**O-Trensox**

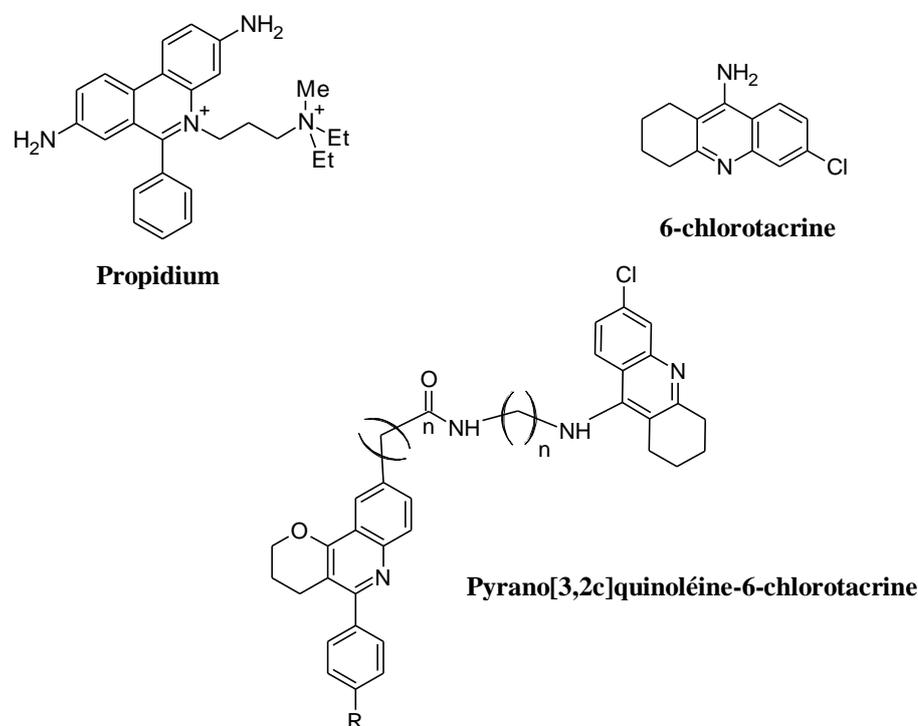
### 1.2. Inhibiteurs d'acétylcholinestérase multifactoriels

La nature multifactorielle de la maladie d'Alzheimer suit une approche thérapeutique innovante basée sur le principe « une molécule, plusieurs cibles ».

L'AChE et la BuChE sont des enzymes multifonctionnelles caractérisées par leur activité estérase classique et par leur fonction non-classique telle que l'aggrégation du peptide  $\text{A}\beta$ . Toutes ces actions impliquent le site périphérique anionique (PAS) de l'enzyme.

De nombreuses études ont décrit la synthèse de nouveaux composés permettant d'agir à la fois au niveau du centre catalytique (CC) et au niveau du PAS. Pour cela, la plupart des stratégies impliquent deux structures permettant l'interaction avec la zone ciblée de l'enzyme. Ces deux structures sont reliées par une chaîne. Une grande partie de ces composés sont des dérivés de la tacrine.

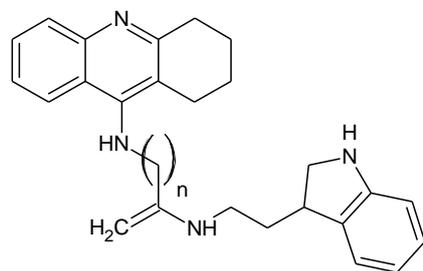
Il a été rapporté la synthèse de composés combinant la 6-chlorotacrine et le 5-phénylpyrano[3,2c]quinoléine [26]. Ce dernier a été choisi pour sa ressemblance avec la partie 6-phénylphenanthridinium du propidium. Celui-ci est connu comme inhibiteur du PAS de l'AChE.



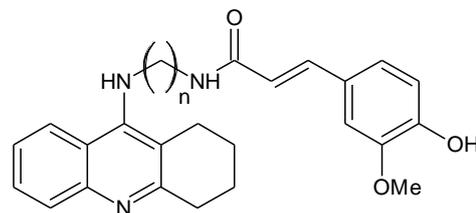
Le potentiel inhibiteur de ce type de composé est de l'ordre du nanomolaire. Il inhibe l'aggrégation de A $\beta$ -40 induit par l'acétylcholinestérase et semblerait avoir également un effet sur la formation du A $\beta$ -42 et la BACE-1.

Divers hybrides impliquant la tacrine et la mélatonine ont également été décrits [88]. Ces composés ont montré une activité comme inhibiteur de l'AChE et des propriétés antioxydantes et neuroprotectives. D'autres juxtapositions ont également présenté ces

propriétés [89]. Des dérivés gallamine-tacrine agissent sur les récepteurs muscariniques [90]. De plus, des hybrides agissant comme protecteur des hépatocytes [89] ont été synthétisés.

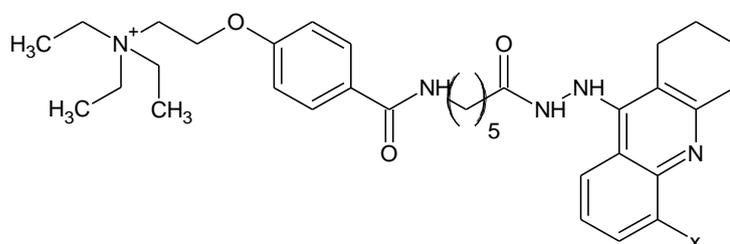


**Tacrine + Mélatonine**



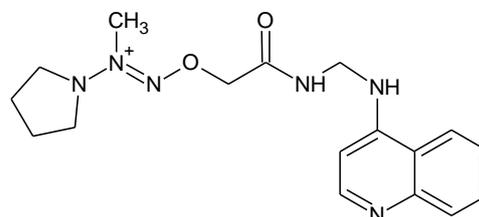
**Tacrine + acide férulique**  
AChEI et antioxydant

**Figure 15 :** Composés ayant montré une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et des propriétés antioxydantes.

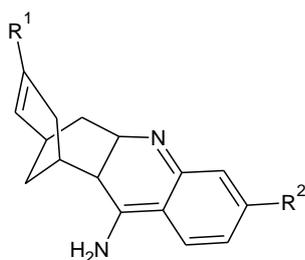


**Tacrine + gallamine**

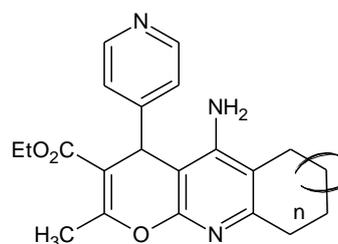
**Tacrine + diazeniumdiolate**  
AChE et protecteur des hépatocytes



On retrouve également dans la littérature des dérivés associant la tacrine à l'huperzine A [91] ou à la nimodipine [92]



**Tacrine + huperzine A**



**Tacrine + nimodipine**

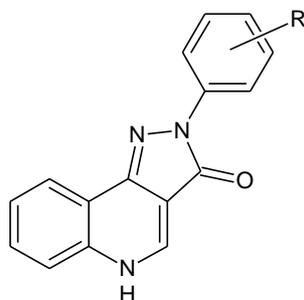
La chaîne permettant la liaison entre les deux structures actives est en général une alkylènediamine en position 9 de la tacrine. Ceci afin de réduire l'hépatotoxicité de la tacrine et augmenter l'activité inhibitrice de l'AChE.

D'autres combinaisons n'impliquant pas de noyau quinoléiques ont également été décrites. La combinaison d'un hydroxy-aminoindane et de la phénéthylamine a permis d'obtenir des composés inhibant l'AChE et la monoamine oxydase [93]. Une activité transporteur de sérotonine a été montré en associant la rivastigmine et la fluoxetine [94].

### 1.3. *Quinoléines et récepteurs des benzodiazépines*

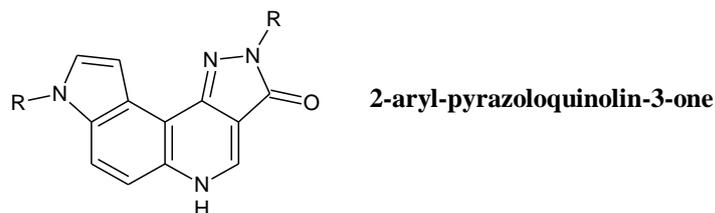
Il existe deux récepteurs des benzodiazépines, le central et le périphérique. Le récepteur central des benzodiazépines fait partie des récepteurs GABA. Ceux-ci sont localisés au niveau de la membrane plasmique des neurones GABA-ergiques. Le récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR) est localisé principalement au niveau de la membrane externe mitochondriale des tissus périphériques et des cellules gliales. La PBR intervient dans le contrôle du potentiel transmembranaire mitochondrial. Elle jouerait un rôle dans l'apoptose, dans la stéroïdogénèse et serait impliquée dans des pathologies neuropsychiatriques [95]. Les ligands liant le PBR ont été largement étudiés, ceci afin d'établir les interactions avec le récepteur dans les tissus du cerveau. Les différentes études utilisent des ligands spécifiques présentant une forte affinité pour le PBR. C'est le cas du dérivé de l'isoquinoléine carboxamide PK11195 [96].

Les 2-aryl-pyrazoloquinolin-3-ones sont connues depuis les années 80 pour posséder une grande affinité envers les PBR.



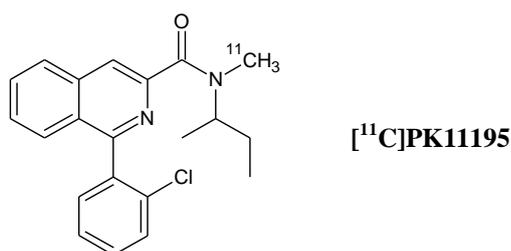
**2-aryl-pyrazoloquinolin-3-one**

Une étude rapporte dans la littérature la synthèse de nouveaux dérivés de type pyrazoloquinolin-3-ones [97].

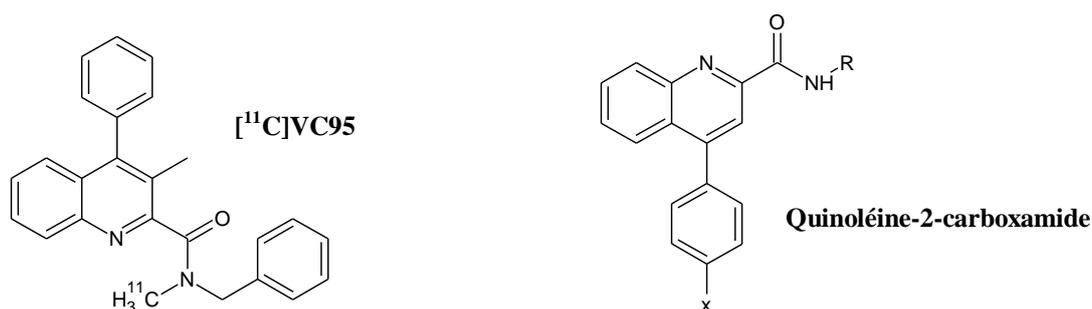


Cette classe de composé a présenté une affinité sélective comme antagoniste du BZR central.

De plus, la famille des quinoléine-carboxamides ont été décrites comme des ligands potentiels pour l'imagerie médicale notamment la TEP. Plusieurs ligands ont été synthétisés se liant spécialement au PBR. Le marquage de ces composés avec  $^3\text{H}$  et  $^{11}\text{C}$  a permis leur utilisation en radiographie et TEP [96]. Pour ces ligands, la concentration utilisée *in vivo* doit être traçable, ils ne doivent pas modifier les fonctions du récepteur ni produire d'effets pharmacologiques.



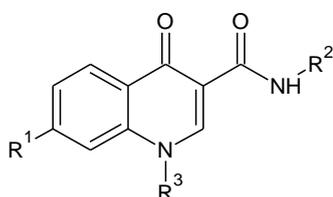
Dans la recherche de nouveaux ligands pour l'imagerie moléculaire, le groupe de Capelli a identifié une famille de quinoléine-carboxamides d'une grande affinité pour le PBR [98]. Le profil cinétique de ces composés est intéressant pour l'imagerie TEP *in vivo*. Ils présentent une accumulation du traceur dans les organes exprimant les PBR, ils ont des liaisons nombreuses et spécifiques ainsi qu'une pénétration rapide au niveau du cerveau [99, 100].



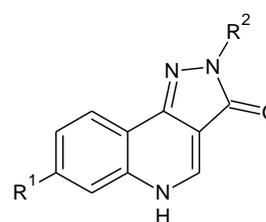
1.4. *Autres domaines du SNC*

**1.4.1. Agonistes sélectifs des CB<sub>2</sub>**

Les CB<sub>2</sub> correspondent aux récepteurs cannabinoïdes, ils participent au contrôle de divers syndromes tels que l'inflammation, l'ostéoporose et la formation de tumeurs d'origine imune (lymphome, leucémie...). De plus les CB<sub>2</sub> pourraient être utilisés dans la prévention de la maladie d'Alzheimer. Etant donné la présence des récepteurs CB<sub>2</sub> au niveau des cellules microgliales du cerveau, des agonistes des récepteurs CB<sub>2</sub> fourniraient une neuroprotection par blocage de l'activation microgliale [101]. Le groupe de Manera a développé la synthèse d'une série de quinoléines et de dérivés analogues (6, 7). Ces composés ont montré une affinité intéressante pour les CB<sub>2</sub>.



6

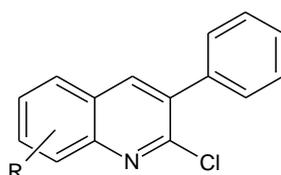


7

**1.4.2. Tyrosine kinase**

La tyrosine kinase appartient à la famille des protéines kinases. Celles-ci assurent le mécanisme de régulation à court terme de l'activité des protéines. Les tyrosines kinases phosphorylent les résidus tyrosyle. Elles peuvent être une cible thérapeutique potentielle de la maladie d'Alzheimer en bloquant l'hyperphosphorylation.

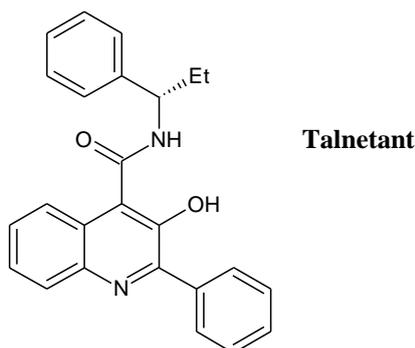
Levitzki et al ont montré le potentiel inhibiteur des tyrosines kinases d'un groupe de composés quinoléiques de type 8 [102].



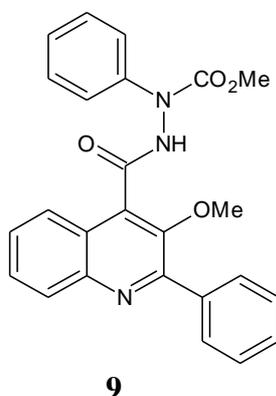
8

**1.4.3. Antagonistes des récepteurs NK<sub>3</sub>**

De récentes études ciblent les récepteurs des neurokines 3 (NK<sub>3</sub>). Ces composés appartiennent à la famille des quinoléine-carbohydrazides. Les laboratoires GlaxoSmithKline ont développé récemment une molécule antagoniste des récepteurs NK<sub>3</sub>, le talnetant. Il est à l'étude pour différentes activités mais principalement pour les troubles fonctionnels intestinaux et comme antipsychotique potentiel pour le traitement de la schizophrénie.



Sur la base de ce composé, Merck a décrit une série de composés à partir d'un leader (9) représenté ci-dessous [103].



Dans cette partie, nous avons montré l'importance et la riche implication des structures quinoléiques dans les domaines biologiques (antibactériens, antipalludéens,...). Il représente également une classe importante dans le domaine neuropathologique.

## 2. Les stratégies de synthèses

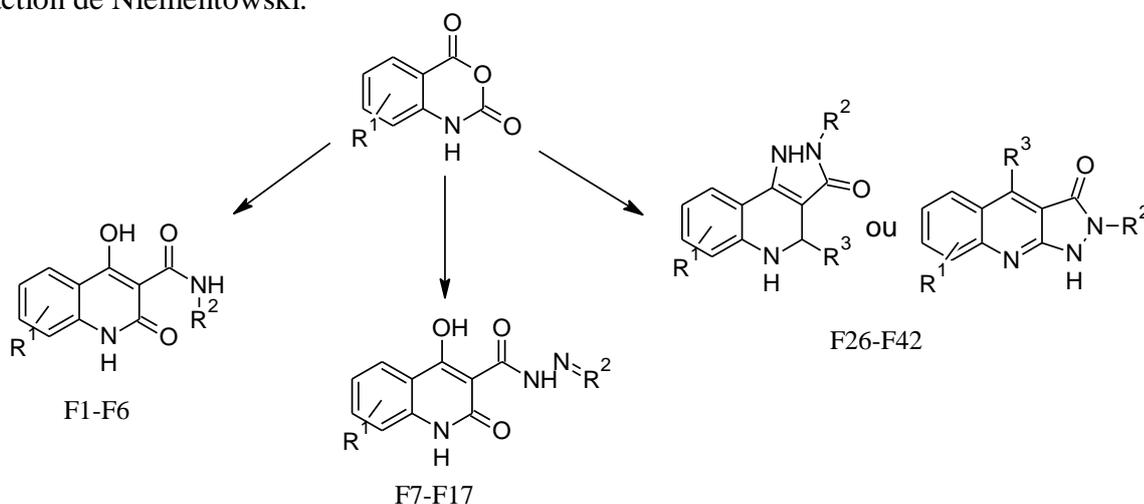
Notre laboratoire s'intéresse depuis plusieurs années à la synthèse du noyau quinoléique.

Les composés synthétisés au sein de notre laboratoire, peuvent ainsi être répartis selon quatre séries :

- Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides
- Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides
- Les Dihydropyrimido-quinoléines
- Les Pyrazolo-quinolinones

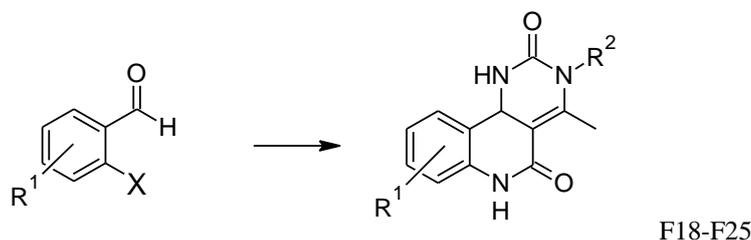
Pour la synthèse de ces séries de molécules. Deux matières premières ont été envisagées.

Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides et carbohydrazides ainsi que les pyrazolo-quinolinones sont obtenues à partir de l'anhydride isatoïque. L'étape clé de la synthèse fait appel à la réaction de Niementowski.



**Schéma 10 :** Présentation des produits synthétisés et leur produit de départ

Les dihydropyrimido-quinoléines sont obtenus à partir de dérivés aldéhydiques. La synthèse repose sur la réaction de Biginelli.



**Schéma 11** : Présentation des produits synthétisés utilisant la Biginelli

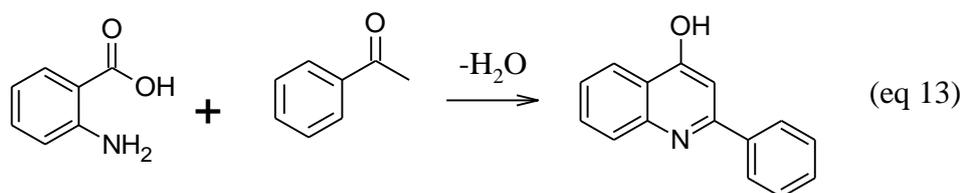
### 3. Réaction de Niementowski

La réaction de Niementowski peut-être considérée comme une variante de la réaction de Friedländer. Deux réactions ont été décrites, celle impliquant une cétone ou un acétate [104] et celle utilisant un amide [105].

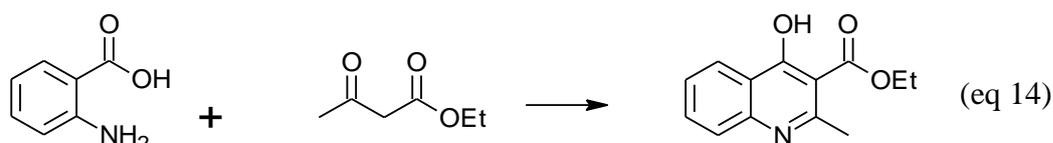
#### 3.1. A partir d'une cétone ou d'un acétate

##### 3.1.1. Généralités

La réaction est décrite pour la première fois en 1894 [104]. Les réactions se font en présence de l'acide anthranilique et de l'acétophénone (eq 13).



Ou bien entre l'acide anthranilique et l'acétoacétate d'éthyle (eq 14).



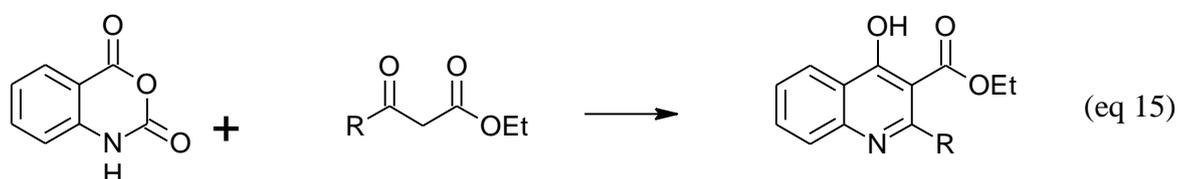
Les conditions opératoires de ces réactions sont parfois drastiques (grande quantité d'acide sulfurique concentré, chauffage au-delà de 200°C). De plus, on constate de faibles rendements (8-30%) et elles sont limitées par le peu de réactifs disponibles.

Suite à cette découverte le nom de son auteur tombe dans l'oubli. La réaction de Niementowski passe « incognito » alors qu'elle est souvent décrite dans la littérature.

La réaction a été revue et modifiée ces dernières années pour utiliser l'anhydride isatoïque comme produit de départ [106]. Cette réaction continue d'être utilisée dans le développement moderne de procédure de synthèse [107, 108].

L'utilisation de l'anhydride isatoïque favorise la réaction grâce à une étape de décarboxylation.

Cette voie peut-être considérée comme la méthode la plus utilisée pour la préparation du noyau quinoléine. La réaction implique une attaque du malonate de diéthyle ou ses dérivés qui est sous forme de carbanion (carbonyl en 4 de l'anhydride isatoïque) conduisant à une cyclisation intramoléculaire. La réaction est employée comme étape dans diverses synthèses [109, 110].



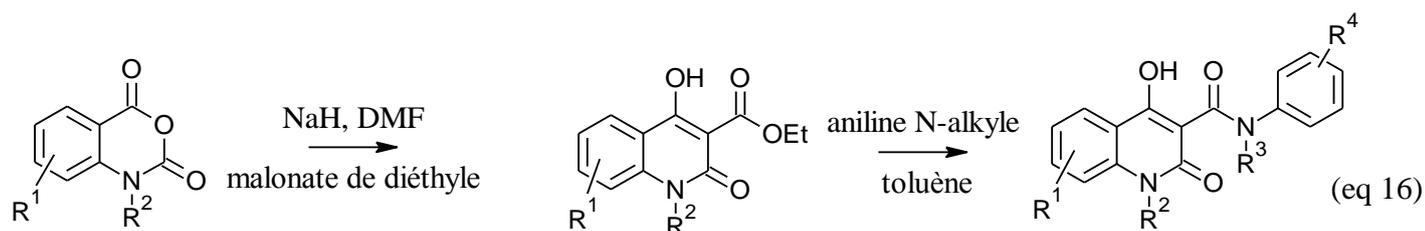
### 3.1.2. Utilisations

La réaction est utilisée dans la synthèse de 1,2-dihydro-4-hydroxy-2-oxo-3-quinoléinecarboxamides afin d'optimiser la préparation du roquinimex. Celui-ci est employé dans le traitement des désordres auto-immunitaire ou de certains cancers [111].

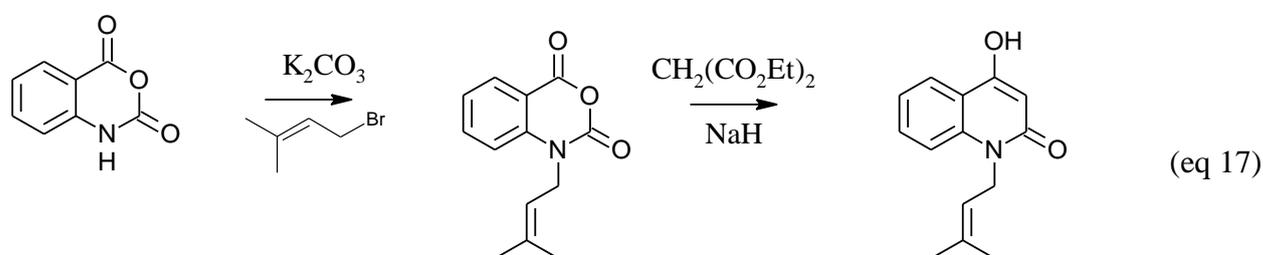


**Roquinimex (Linomide)**

Parmi les différentes méthodes utilisées pour la synthèse de ces dérivés, l'équation 16 représente celle via la réaction de Niementowski.



De nouveaux 4-hydroxy-2-quinolones ont également été synthétisés afin de déterminer l'influence de divers substituants au niveau de la réactivité et de la régiochimie. Ceci dans le but de prédire le résultat régiochimique d'une cycloaddition dipolaire avec des alcènes [112].

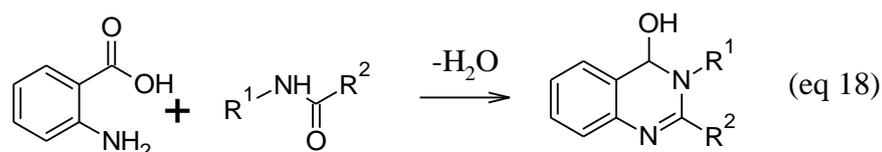


Cependant, la réaction de Niementowski est aussi très fréquemment associée à la synthèse de quinazolinones. Pour cela la cétone ou l'acétate sont remplacées par un amide.

### 3.2. A partir d'un amide

#### 3.2.1. Généralités

Suite à sa première réaction, Stefan Niementowski publie en 1895 la même réaction impliquant cette fois un amide, permettant ainsi l'obtention du noyau quinazoline [105].

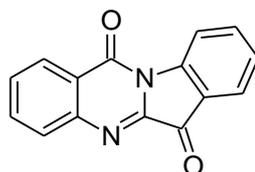
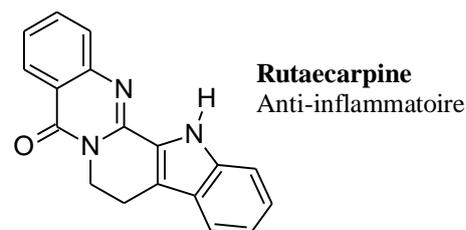
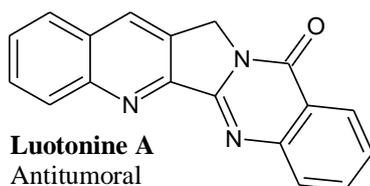


Afin d'améliorer les conditions opératoires de cette réaction, plusieurs méthodes ont été développées utilisant les micro-ondes. On a pu ainsi réduire les temps de réaction [113].

### 3.2.2. Utilisations

Depuis la préparation des 4(3H)-quinazolinones par Niementowski, plusieurs méthodes ont été développées. Bien que la plupart des réactions s'appliquent à des amides acycliques, les méthodes pour les amides cycliques sont limitées. Ces limitations ont permis le développement de procédures permettant la cyclocondensation de l'anhydride isatoïque et des lactames [114-116].

Les quinazolines et les quinazolinones sont bien connues pour leur activité biologique en tant que fongicide, anti-inflammatoire, anticancéreux, antihypertensif et antibactérien.



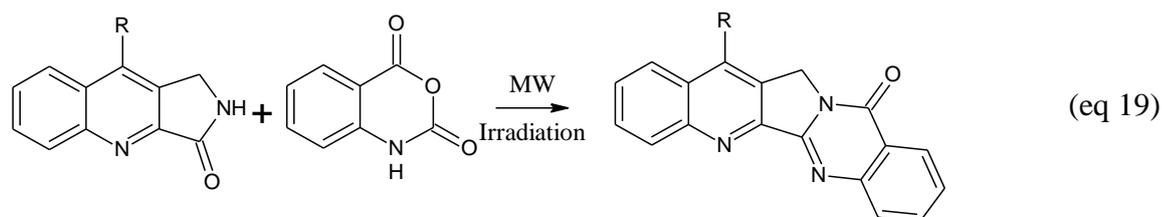
Les modifications apportées à cette réaction ont permis son utilisation dans la synthèse de certains composés biologiquement actifs [114, 117]. La réaction de Niementowski est ainsi utilisée dans diverses stratégies de synthèse. Elle est largement impliquée dans la formation de noyaux quinazolines et dans des réactions de fusion de cycle [115, 118].

La réaction de Niementowski peut également être appliquée comme condensation hétérocyclique.

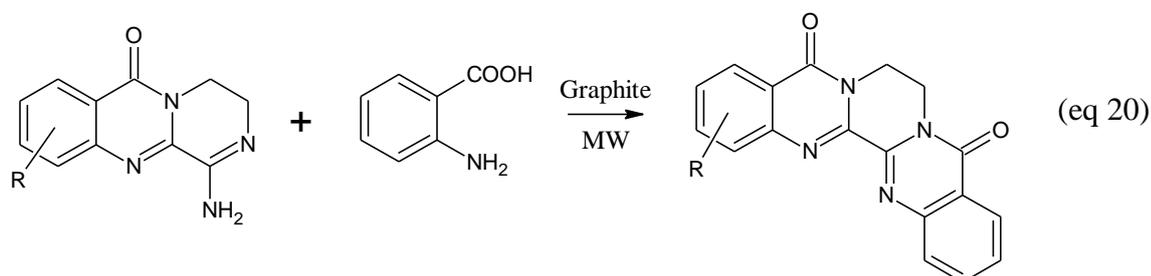
Les irradiations micro-ondes ont permis la synthèse de dérivé de la luotonine A. Cette dernière est un alcaloïde pyrroloquinazolinoquinoléine, qui est un composé cytotoxique contre

des cellules leucémiques. De plus, le noyau pentacyclique est très proche de la captothécine, qui est un inhibiteur des topoisomères I.

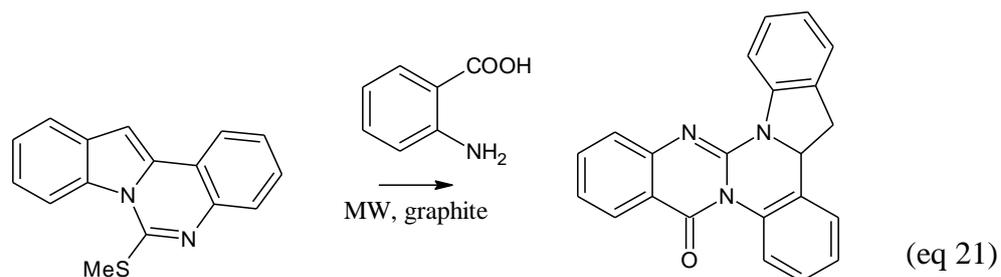
Le groupe Yadav a ainsi décrit la synthèse de la luotonine A (eq 19) impliquant la condensation de la 3-oxo-1*H*-pyrrolo[3,4-*b*]quinoléine et l'anhydride isoïque sous irradiations micro-ondes [114].



Des dérivés structurellement liés à la rutaecarpine et la luotonine A ont été développés (98). La synthèse de ces hétérocycles est obtenue par condensation du quinazolinone et de la piperazine [107, 119]. La réaction est assistée par micro-ondes en présence de graphite.



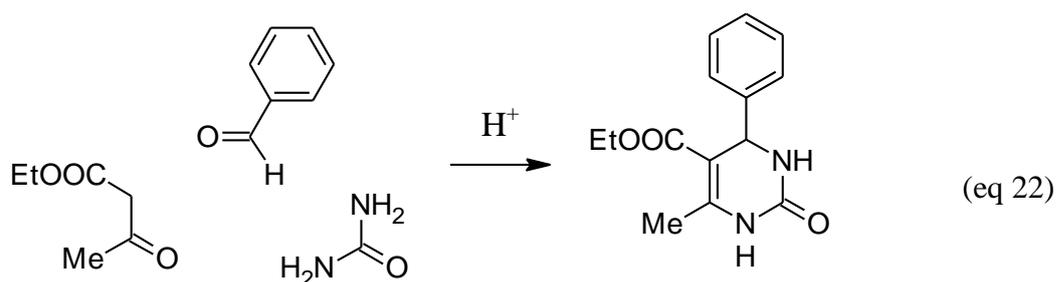
La synthèse de ce type de pentacycle peut également se faire en deux étapes impliquant une réaction de Niementowski classique entre le formamide et un acide anthranilique (eq 21). La seconde étape est une condensation d'un second acide anthranilique avec une quinazolinone qui aura été traitée au préalable avec le réactif de Lawesson permettant la thionation [107, 117].



## 4. Réaction de Biginelli

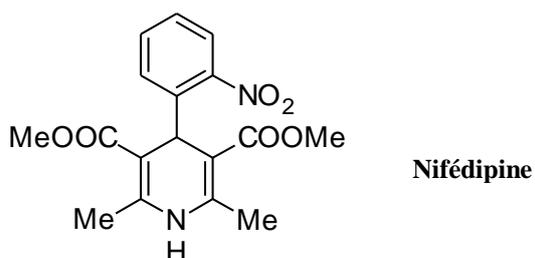
### 4.1. Généralités

Cette réaction plus que centenaire fut reportée pour la première fois par Pietro Biginelli en 1893. Il décrit la synthèse d'une 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one. Celle-ci est obtenue par une simple réaction de condensation « one-pot » entre un benzaldéhyde, l'urée et l'acétoacétate d'éthyle dans l'éthanol [120].



Malgré le fort potentiel de cette méthode, celle-ci restera inexploitée durant les années qui suivirent. Ce n'est que dans les années 80 que l'intérêt des dihydropyrimidines grandit. De ce fait, l'utilité de la réaction de Biginelli va s'accroître. Différentes variations seront réalisées en faisant varier les trois composés et les conditions de synthèse [121-123]. Ceci donnera accès à un large nombre de dihydropyrimidones fonctionnalisées.

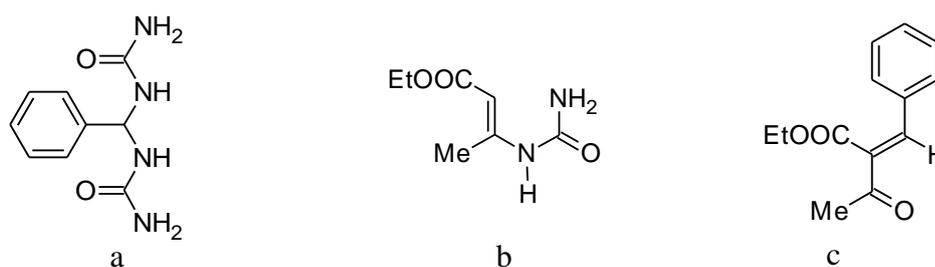
L'intérêt de ces dihydropyrimidines est principalement dû à leur structure proche de la nifédipine. Les dihydropyrimidines de type nifédipine sont utilisées comme inhibiteur calcique. Plusieurs études dans les années 90 ont montré cette similarité pharmacologique [124-126].



Par la suite, l'intérêt de ces composés a évolué. De nombreuses études ont été consacrées à la synthèse ainsi qu'à d'autres activités biologiques. Les analogues de la dihydropyrimidine ont été décrits principalement comme anti-bactériens, anti-tumoraux, anti-hypertenseurs, anti-viraux et anti-inflammatoires [127-130].

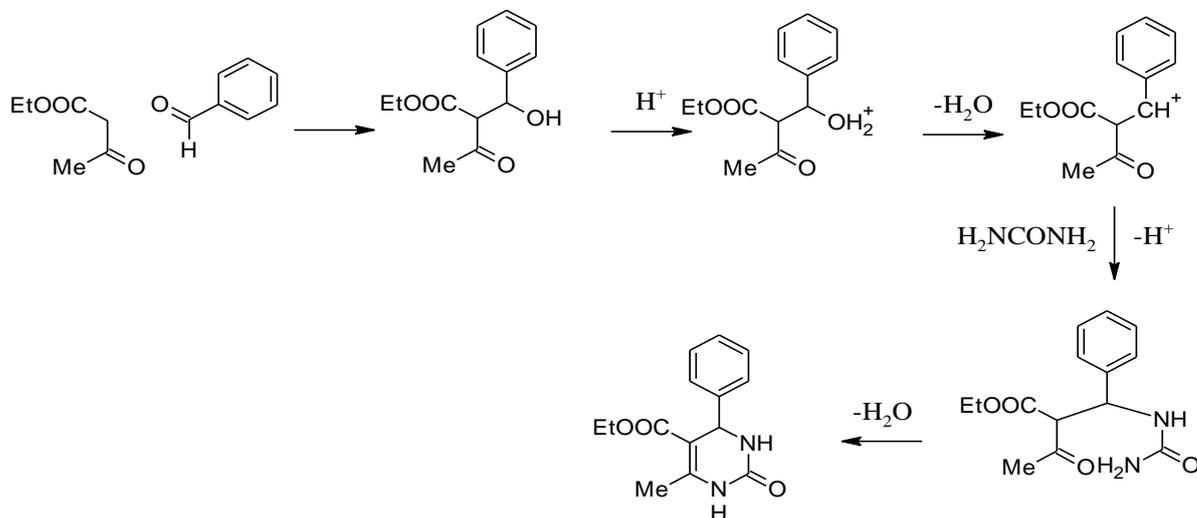
### 4.2. Mécanisme

Le mécanisme de la réaction de Biginelli fut étudié par plusieurs groupes de recherche. En 1933, Folkers et al proposent un mécanisme qui sera approuvé pendant les 40 ans qui suivirent [131]. Il propose trois intermédiaires possibles dans le système {urée/benzaldéhyde/acétoacétate d'éthyle}.



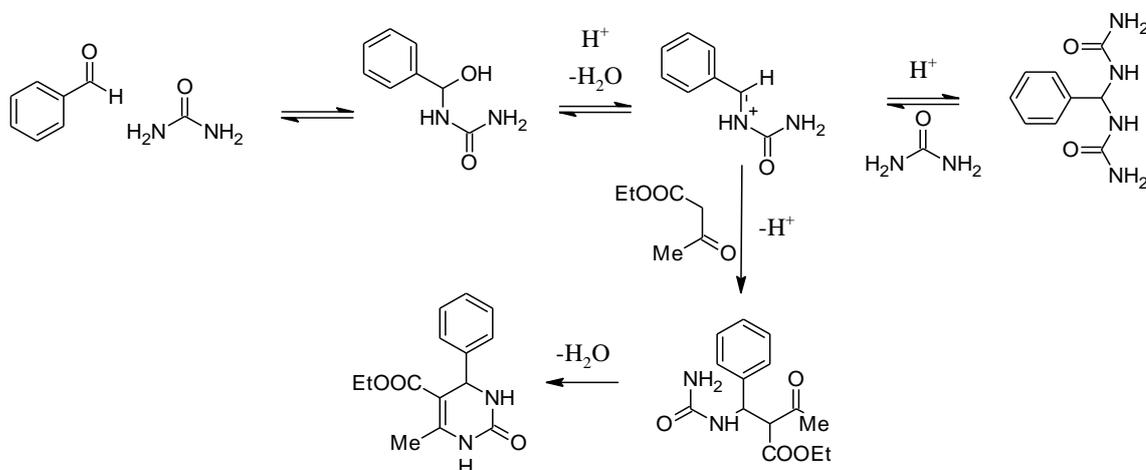
Expérimentalement il démontre que seul les intermédiaires « a » et « b » donnent la pyrimidine. « c » ne réagissant pas en présence de l'urée. A partir de là, il montre que « b » s'hydrolyse dans les conditions de la réaction. Il propose donc la structure « a » comme intermédiaire clé de la réaction.

Par la suite, le mécanisme est examiné à nouveau par Sweet et Fissekis. Ils suggèrent que la première étape est une condensation aldolique. Celle-ci serait l'étape limitante et conduirait à l'intermédiaire clé : un carbocation [132].



**Schéma 12 :** Mécanisme de la réaction de Biginelli proposé par Sweet et Fissekis

Plus récemment, Kappe réexamine le mécanisme en s'appuyant sur la RMN du proton et du carbone. Il prouve que la première étape correspond à la formation acido-catalysée d'un N-acylimmonium à partir de l'aldéhyde et de l'urée [133]. La réaction entre l'ion immonium et l'acétoacétate d'éthyle conduit à une chaîne ouverte de type uréide. Il se produit par la suite la cyclisation conduisant à la dihydropyrimidine. Les recherches de Kappe n'ont pas permis d'isoler l'ion acylimmonium.



**Schéma 13 :** Mécanisme de la réaction de Biginelli proposé par Kappe

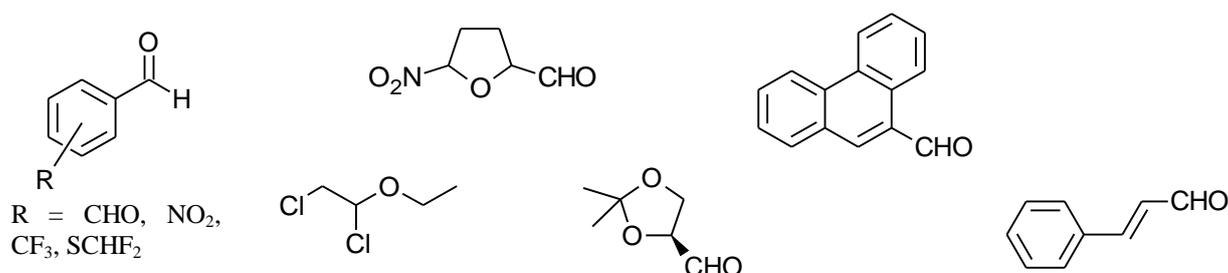
De nos jours, les méthodes de chimie quantique sont de plus en plus utilisées pour l'élucidation des mécanismes. Une étude utilisant une méthode théorique de densité fonctionnelle a permis de confirmer le mécanisme de Kappe [134].

Depuis sa découverte en 1893, la réaction de Biginelli a suivi un long chemin. De la préparation de la plus simple pyrimidine à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, à la formation de bibliothèques de composés bioactifs. La réaction de Biginelli a été adaptée avec succès aux besoins et attentes de la chimie organique moderne. Du fait du potentiel pharmacologique du squelette dihydropyrimidinique, il n'est pas surprenant de découvrir de nouveaux composés associant la synthèse combinatoire et les techniques de screening [135].

### 4.3. Variation des réactifs

Entre 1970 et 1980, l'intérêt de la réaction de Biginelli grandit progressivement. La réaction d'origine évolue en faisant varier l'un des trois réactifs de départ. On voit ainsi apparaître un grand nombre de DHPM fonctionnalisées [135, 136].

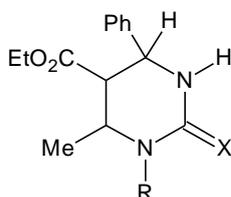
Une variété d'aldéhydes différents ont été testés, on y retrouve différents aromatiques mais également des composés aliphatiques et des hétérocycles [123, 137].



Des urées substituées ou des thiourées peuvent remplacer l'urée.

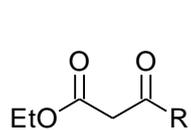


Les urées ou thiourées monosubstituées forment uniquement la dihydropyrimidine N-1 substituée [124, 127, 136].

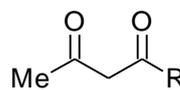
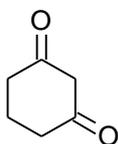


**Dihydropyrimidine N-1 substituée**

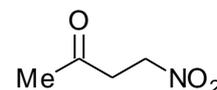
L'application de la réaction de Biginelli utilise fréquemment des  $\beta$ -cétoesters de type acétates. D'autres composés peuvent être utilisés comme le cyclohexane-1,3-dione [138], ou un acétoacétamide [139].



R = Et, Ph, CH<sub>2</sub>Br

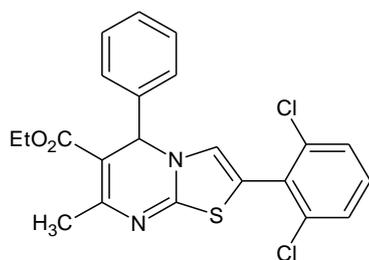


R = NPh, NEt<sub>2</sub>,  
OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl, SEt, Me

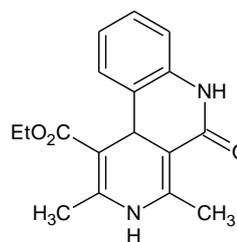


#### 4.4. Réaction de cyclisation

Les dihydropyrimidines ont montré d'importantes activités biologiques (cf: 4.5). Cependant, lorsque l'hétérocycle azoté de la DHPM est couplé avec des structures hétérocycliques, on obtient des ligands de grande affinité pour divers récepteurs biologiques. Quelques-uns de ces composés ont retenu l'attention de la chimie thérapeutique. Par exemple le thiazolopyrimidine (inhibiteur du récepteur glutamate) et la pyrido[3,4-*c*]quinoléine (traitement de l'asthme).



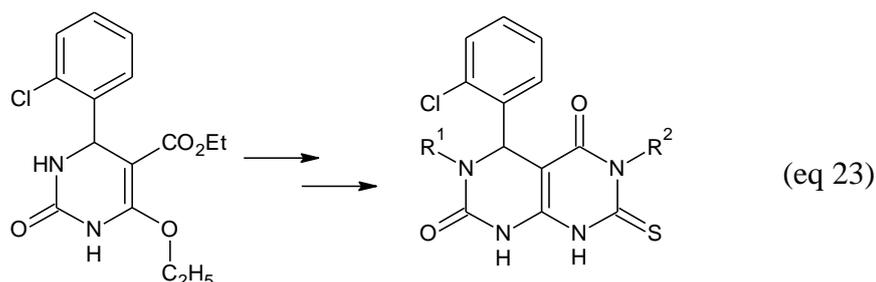
**thiazolo[3,2-*a*]pyrimidine**



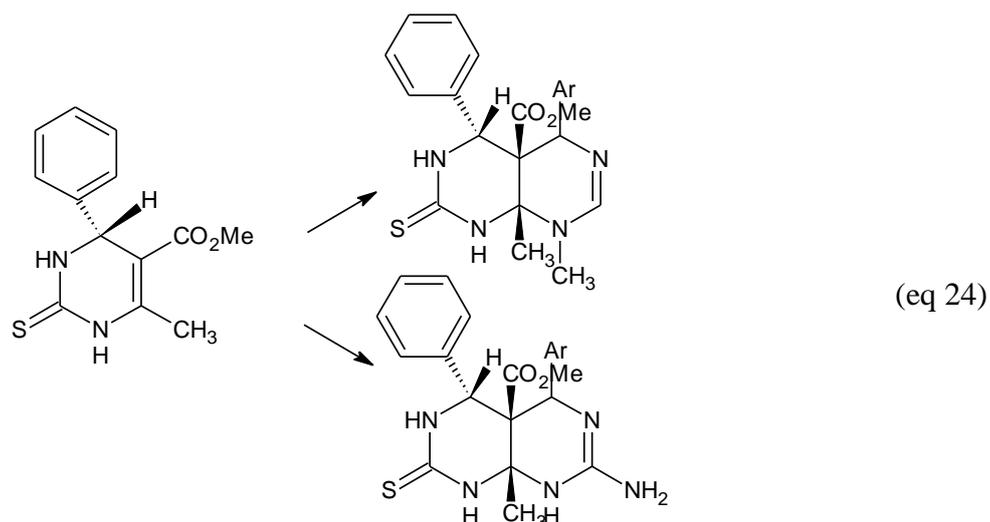
**pyrido[3,4-*c*]quinoléine**

**4.4.1. Cyclisation en C<sub>5</sub>/C<sub>6</sub>**

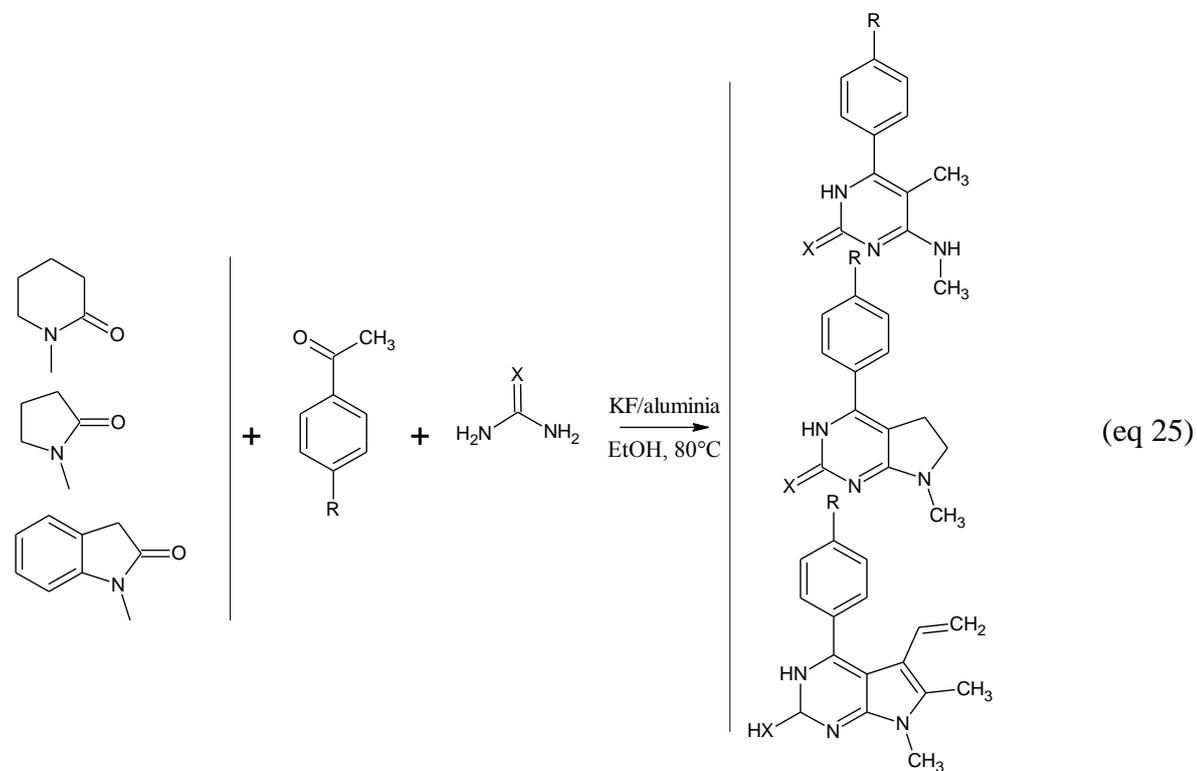
Les pyrimidopyrimidinines sont des composés connus pour leurs propriétés pharmacologiques, leur intérêt s'est beaucoup développé ces dernières années. La méthode la plus classique utilise le 1,3-disubstitué-cyanouracile ou une pyrimidinecarbonitrile comme produit de départ. Le groupe de Sharma a orienté sa stratégie de synthèse en partant d'un produit issu de Biginelli [140]. La cyclisation est intramoléculaire et obtenue à 0°C en présence de méthylate de sodium dans le méthanol.



Les DHPMs peuvent être également utilisées dans des hétéro-Diels-Alder. On forme ainsi des analogues pyrimido[4,5-*d*]pyrimidines [141]. La double liaison en 5,6 du composé de Biginelli est considéré comme le diénophile. L'hétéro-Diels-Alder est réalisé en présence de différents diènes.

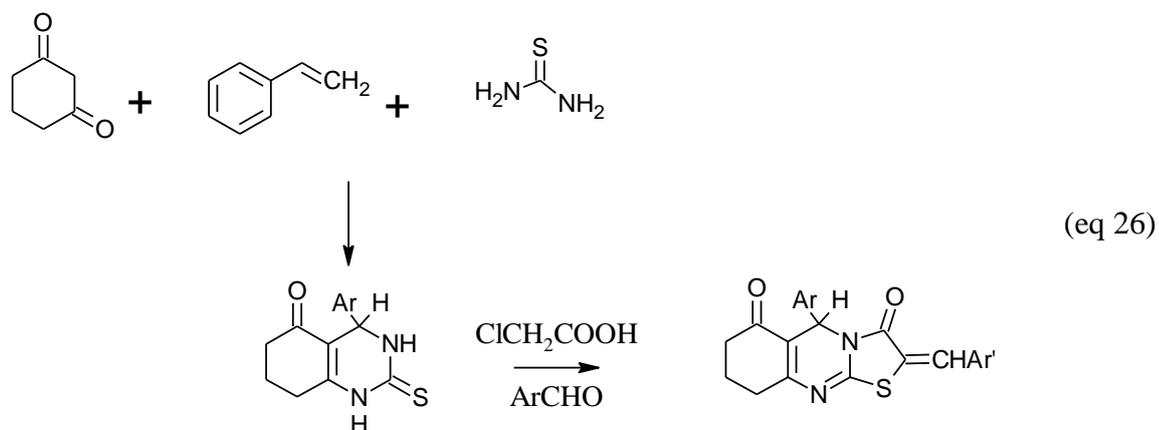


On peut également obtenir la formation d'un cycle en position 5,6 en utilisant un  $\beta$ -cétoester hétérocyclique. La réaction décrite par Mizar et al implique l'utilisation d'un support solide inorganique (KF-alumina) en présence de méthanol [142].



#### 4.4.2. Cyclisation C<sub>2</sub>/N<sub>3</sub>

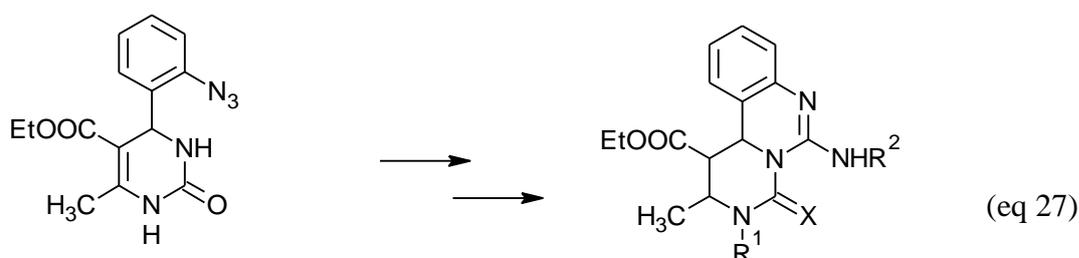
L'utilisation de la thiourée comme produit de départ peut servir d'intermédiaire clé pour la construction de thiazolopyrimidines.



Les dérivés thiazoliques sont des composés possédant diverses activités biologiques telles qu'anti-bactériennes, anti-fongiques, anti-inflammatoires. Ces composés peuvent être obtenus à partir d'une dihydropyrimidine [143-146]. La réaction de Biginelli est catalysée par  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . La réaction de cyclisation est obtenue en présence de l'acide monochloroacétique et l'arylaldehyde/arylfuraldéhyde correspondants.

#### 4.4.3. Autres Cyclisations

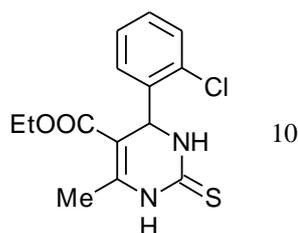
Hormis les cyclisations décrites ci-dessus, d'autres systèmes polycycliques peuvent-être facilement obtenus à partir des composés de Biginelli. Ces réactions impliquent la plupart du temps une cyclisation intramoléculaire [147, 148].



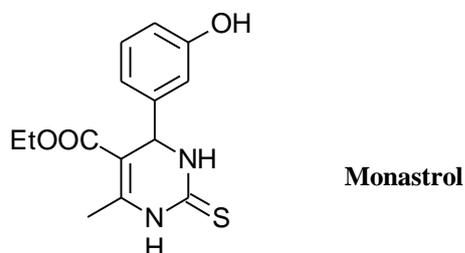
La voie de synthèse de Li et al pour obtenir une série de pyrimido-quinazolinones se base sur la combinaison de la réaction de Biginelli et une réaction de condensation de type aza-wittig.

#### 4.5. *Activités biologiques*

Les composés de Biginelli ont présenté des activités biologiques dans de nombreux domaines. Dans les années 30, un simple dérivé fut breveté comme agent de protection de la laine contre les mites (10).



Plus tard, l'intérêt s'est tourné vers des composés principalement anti-viraux, anti-bactériens, et anti-tumoraux. Initialement, les études pharmacologiques étaient focalisées sur leurs propriétés modulatrices du canal de calcium [124, 149]. Plus récemment, les dérivés de Biginelli ont montré des activités anti-cancéreuses. C'est le cas du monastrol.



Enfin, l'intérêt principal des composés issus de la réaction de Biginelli reste son activité antihypertensive. L'activité cardiovasculaire des composés de Biginelli est en premier décrit par Khanina et al en 1978. Depuis 1986, le nombre de publications et brevets en rapport avec l'activité des des DHPM a grandi rapidement [125, 126].

# **CHAPITRE III**

## **Travaux personnels**

## I. Introduction

Dans ce chapitre nous allons exposer nos travaux personnels concernant la synthèse et l'évaluation biologique de nouveaux dérivés quinoléiques. Le logiciel de Discovery Studio acquis par le laboratoire nous a permis de développer une approche « pharmacophore based design ». On présentera dans un premier temps deux modèles, le pharmacophore antioxydant et le pharmacophore chélateur de métaux. A partir de ces modèles nous avons réalisé la synthèse de deux séries de composés les 1,2-dihydroquinoléine-carboxamides et les 1,2-dihydroquinoléine-carbohydrazides. Ces derniers tiennent compte des éléments donnés par les pharmacophores auxquels nous avons introduit le noyau quinoléique. Nous avons ensuite réalisé différents tests de chélation et d'antioxydant sur nos composés permettant d'établir la corrélation et confirmer les pharmacophores exposés.

Nous présenteront par la suite l'évaluation biologique comme inhibiteur potentiel des cholinestérases réalisée sur nos composés. Les molécules précédemment synthétisés ont été testées dans le but de découvrir des molécules ayant une activité multifactorielle dans la prévention ou le traitement de la maladie d'Alzheimer. Puis, nous exposerons les résultats chimiques et biologiques des deux dernières séries, les dihydropyrimido-quinoléines et les pyrazoloquinoléines. Enfin, le docking des molécules actives permettra de mettre en évidence les interactions existantes avec l'enzyme.

## II. Les antioxydants et chélateurs de métaux

Les espèces réactives oxygénées et les métaux par l'intermédiaire de la réaction de Fenton sont impliqués dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

Une approche « pharmacophore based design » a été envisagé pour la préparation de nouveaux antioxydants quinoléiques. L'approche que nous avons utilisé s'appuie sur la création de modèles théoriques (les pharmacophores) établis à partir de références. En tenant compte des éléments fournis par ces modèles, nous avons synthétisé deux séries de composés que nous avons par la suite comparé aux pharmacophores.

## 1. Les Pharmacophores

Le terme de pharmacophore est utilisé depuis plusieurs années en chimie thérapeutique. La définition officielle donnée par l'IUPAC en 1998 [150, 151] est la suivante :

« Le pharmacophore est un ensemble d'éléments stériques et électroniques nécessaire pour garantir l'interaction optimale d'une supramolécule avec la structure d'une cible biologique spécifique et déclencher (ou bloquer) sa réponse biologique ».

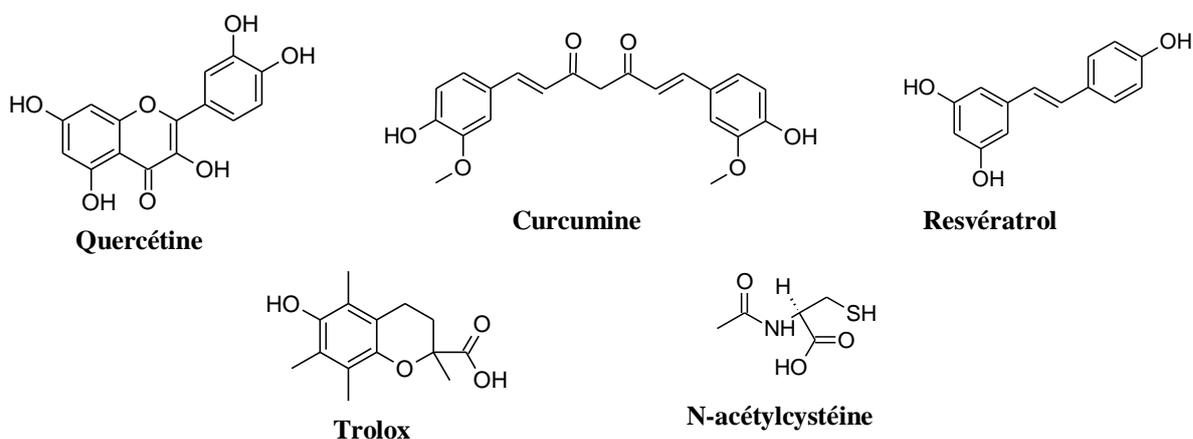
La définition précise également que ce pharmacophore ne constitue pas une molécule réelle ni une association de groupements fonctionnels réels. C'est un simple modèle qui tient compte des interactions possibles d'un groupe de molécules vis-à-vis de la structure d'une cible.

La modélisation d'un pharmacophore consiste en la conception d'un modèle 3D réalisé à partir d'un ensemble de composés actifs. Ces composés doivent exercer de façon qualitative la même activité au niveau de la même enzyme ou du même récepteur [152]. Ceci afin de déterminer l'ensemble des paramètres géométriques et structuraux communs à celles-ci.

Le logiciel discovery Studio que nous avons utilisé propose pour cela deux méthodes. La méthode HYPOGEN qui est quantitative et nécessite au moins seize molécules. La méthode HIP HOP qui, elle, est qualitative. Cet algorithme d'élucidation de pharmacophore est basé sur l'alignement des composés actifs. Par superposition de plusieurs conformations, il définit un arrangement tri-dimensionnel d'éléments communs entre les différents composés. La méthode peut se faire avec trois molécules dont une peut-être privilégiée par rapport aux autres. Nous avons ainsi favorisé la molécule de quercétine pour le pharmacophore correspondant aux molécules antioxydantes et la molécule de triéthylènetétramine pour le pharmacophore correspondant aux molécules chélatrices des métaux.

### 1.1. Pharmacophore antioxydant

Celui-ci a été établi selon la méthode HIP-HOP. Ce pharmacophore est réalisé à partir de composés connus pour leurs propriétés antioxydantes. Nous avons retenu comme molécules de références, la quercétine, la curcumine, le resvératrol, le trolox et la *N*-acétylcystéine.



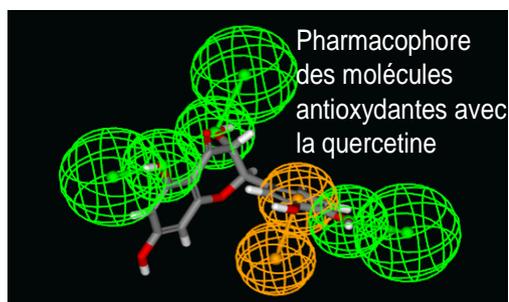
Cette méthode nous permet de privilégier une molécule par rapport à une autre. Nous avons ainsi privilégié la molécule de quercétine pour créer un modèle privilégiant le noyau fusionné. Une dizaine de modèles ont été proposés, nous avons choisi celui qui a présenté le score le plus élevé et la meilleure corrélation avec les références. Le tableau qui suit présente ces données :

Références	Corrélation du modèle	Importance
Quercétine	4/4	2/2
Curcumine	3,56/4	1/2
Resvératrol	1,747/4	1/2
Trolox	1,693/4	1/2
<i>N</i> -acétylcystéine	0,944/4	1/2

**Tableau 1 :** Corrélation des références au modèle et ordres d'importance pour le pharmacophore antioxydant

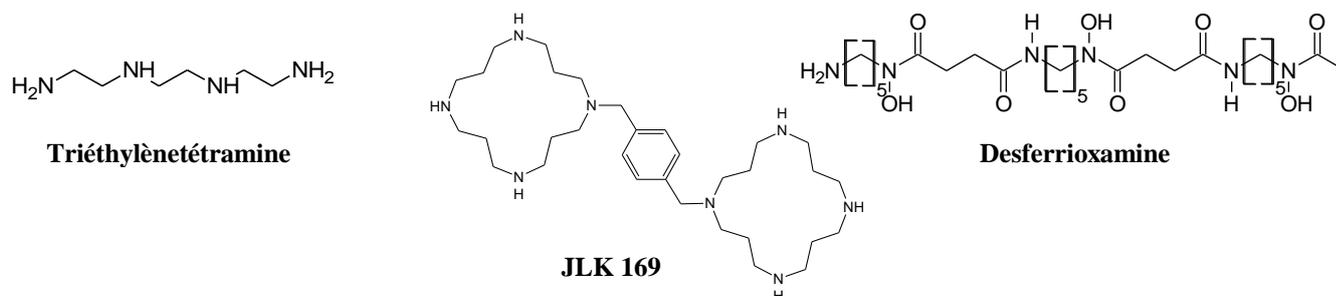
On obtient ainsi le modèle présenté dans la figure 20. On trouve pour ce modèle trois régions de l'espace accepteur de liaisons hydrogènes (vert) et une région favorisant des interactions  $\pi$  (orange).

**Figure 20 :** Pharmacophore antioxydant donné par le logiciel discovery studio 2.5.



### 1.2. Le pharmacophore chélatant

De même que pour le pharmacophore antioxydant, celui-ci a pu être établi selon la méthode HIP-HOP. Nous nous sommes basés sur des composés connus pour leurs propriétés chélatantes. Nous avons dans cette étude retenu, la triéthylènetétramine, le JLK 169 ainsi que la desferrioxamine.

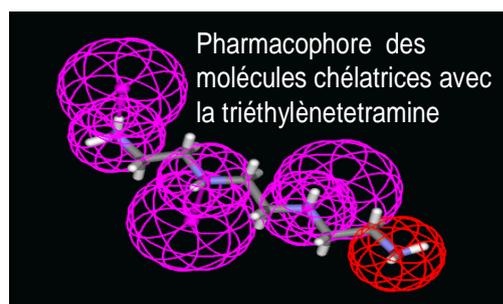


Comme pour le pharmacophore antioxydant, le modèle choisi est celui qui possède à la fois le score le plus élevé et la meilleure corrélation avec l'ensemble des références. Ces données sont décrites dans le tableau 2.

Références	Corrélation du modèle	Importance
Triéthylènetétramine	4/4	2/2
JLK 169	3,062/4	½
Desferrioxamine	1,599/4	½

**Tableau 2 :** Corrélation des références au modèle et ordres d'importance pour le pharmacophore chélatant

On obtient ainsi le modèle présenté par la figure 21. On trouve pour ce pharmacophore trois points donneurs de liaison hydrogène (violet). Il possède également une position ionisable positivement (rouge). La position ionisable définit un atome portant une charge formelle (ou ionisation probable *in vivo*).



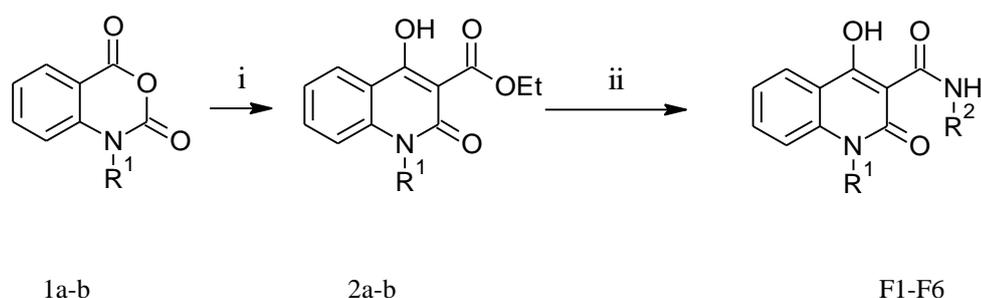
**Figure 21 :** Pharmacophore chélatant donné par le logiciel discovery studio 2.5.

Une fois ces pharmacophores établis, nous avons envisagé la synthèse de deux séries de molécules (1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides et 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxahydrazides) pouvant corrélérer avec les pharmacophores établis. Des tests antioxydants et chélateurs de métaux ont été ensuite effectués sur les composés synthétisés afin de dégager leur activité première et étudier le pouvoir discriminant des modèles.

## 2. Synthèse

### 2.1. 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides

La synthèse des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides se fait en deux étapes selon le schéma suivant :



**Schéma 14 :** (i) : malonate de diéthyle, NaH, DMF, 100°C. (ii) triéthylènetétramine ou diéthylènetriamine, xylène, 150°C. R<sup>1</sup> = H, CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = NH<sub>2</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>.

La première étape est une variation de la réaction de Niementowski décrite précédemment (Ch II, 3). Le noyau quinoléique est formé par condensation de l'anhydride isatoïque (ou *N*-méthyl anhydride isatoïque) en présence du malonate de diéthyle en milieu basique. Cette réaction est réalisée selon la méthode précédemment décrite [153] avec un rendement variant entre 40-70%. Elle est probablement la réaction la plus couramment utilisée pour la formation de dérivés des quinoléinediols. La base la plus communément utilisée afin d'obtenir le malonate sous forme de carbanion est l'hydrure de sodium. Cette réaction est réalisée dans le DMF (ou le DMA) à température voisine de 100°C. Ces conditions sont appropriées pour le développement à petite échelle. Les propriétés inflammables de l'hydrure de sodium rendent difficile son utilisation à l'échelle industrielle. D'autres bases sont décrites dans la littérature. L'utilisation du *ter*-butylate de sodium est une alternative à l'hydrure de sodium [109].

La deuxième étape est une réaction de trans-amidification. La réaction du composé 2 en présence de l'hydrazine donne les composés F1 et F2 avec de bons rendements. La réaction est réalisée dans le méthanol et chauffée comme il a été décrit dans la littérature [154]. En revanche les composés F3-F6 nécessitent d'autres conditions opératoires. La réaction est réalisée dans le xylène en présence de la diéthylènetriamine ou triéthylènetétramine.

La fixation sur la structure quinoléique d'une chaîne aminée ou polyaminée, est réalisée dans le but d'obtenir des composés ayant la propriété de chélater les ions métalliques.

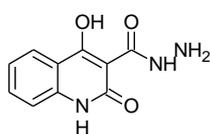
Ce schéma de synthèse nous conduit aux composés F1 à F6 répertoriés dans le tableau suivant, le rendement correspond à celui de la dernière étape :



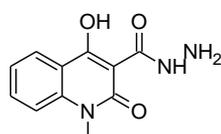
Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Rendement (%)
F1	H	-NH <sub>2</sub>	83
F2	CH <sub>3</sub>	-NH <sub>2</sub>	64
F3	H	-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	73
F4	CH <sub>3</sub>	-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	89
F5	H	-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	84
F6	CH <sub>3</sub>	-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NHC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	6

**Tableau 3 :** Répertorie les substituants et les rendements des composés F1-F6

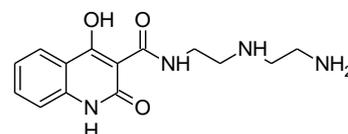
Ainsi à partir de l'anhydride isatoïque et du N-méthyl anhydride isatoïque nous avons pu obtenir les composés suivants :



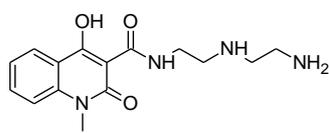
F1



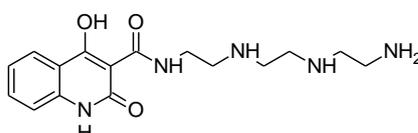
F2



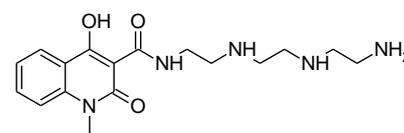
F3



F4



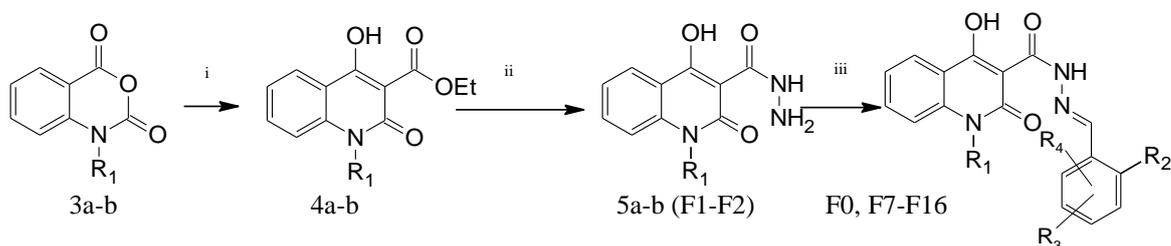
F5



F6

## 2.2. 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides

La synthèse des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides s'obtiennent par deux voies différentes. La première voie d'accès se fait en 3 étapes à partir de l'anhydride isoatoïque et qui sont communes à la synthèse des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides. La deuxième voie de synthèse est réalisée en quatre étapes à partir de l'acide anthranilique.

**2.2.1. A partir de l'anhydride isoatoïque**

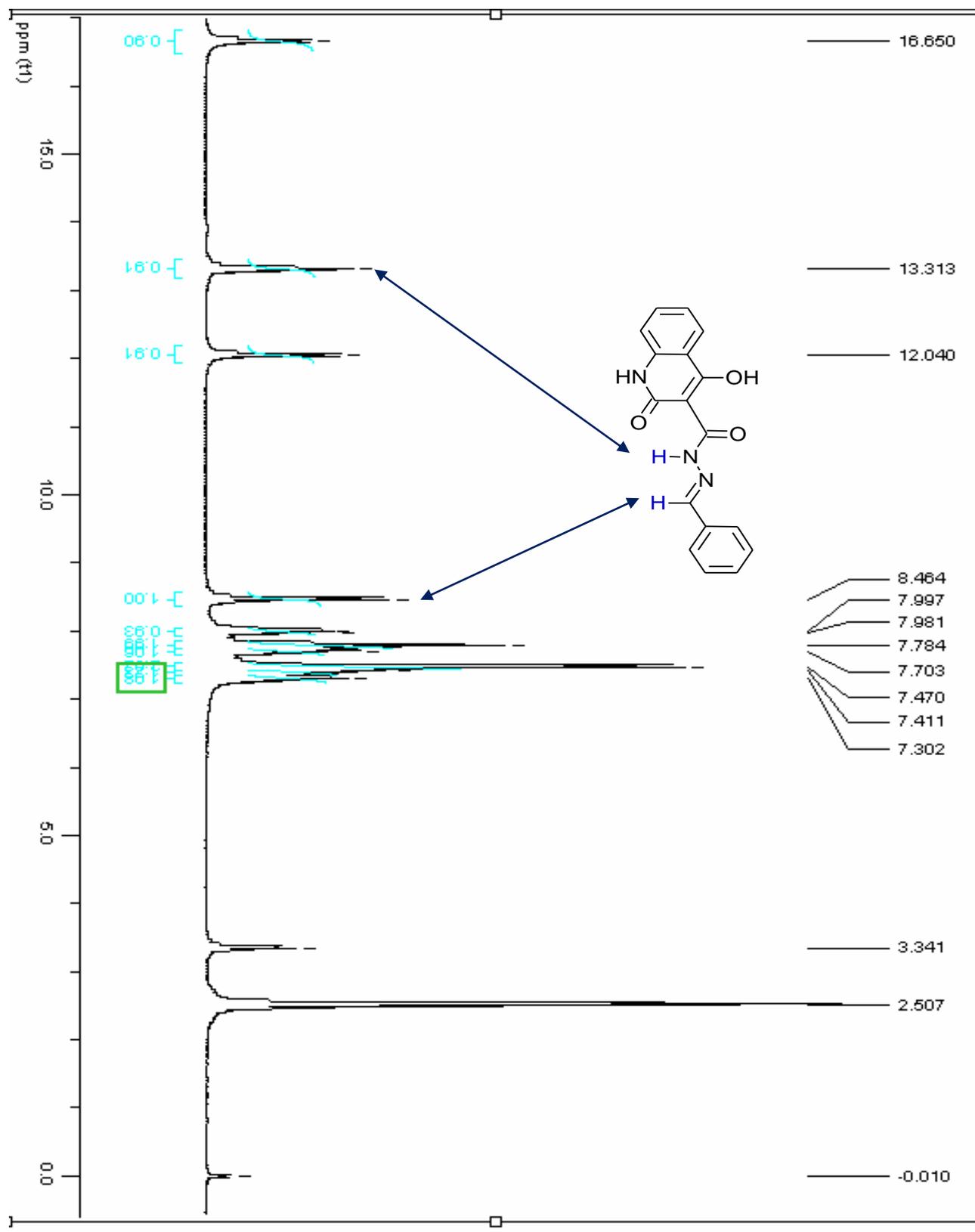
**Schéma 15 :** (i) malonate de diéthyle, NaH, DMF, 100°C. (ii) hydrazine, MeOH, 100°C. (iii) benzaldéhyde correspondant, acide O-phosphorique, DMSO, 100°C. R<sup>1</sup> = H, CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H, OH, NO<sub>2</sub>, Cl, R<sup>3</sup> = H, OH, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, R<sup>4</sup> = H, Cl.

Les produits de départ de cette série sont l'anhydride isoatoïque et le *N*-méthyl anhydride isoatoïque. La première étape correspond à la formation du noyau quinoléique par condensation avec le malonate de diéthyle en milieu basique. Ensuite nous avons une *trans*-amidification de la fonction ester avec l'hydrazine. Nous arrivons ainsi aux composés 5a-b.

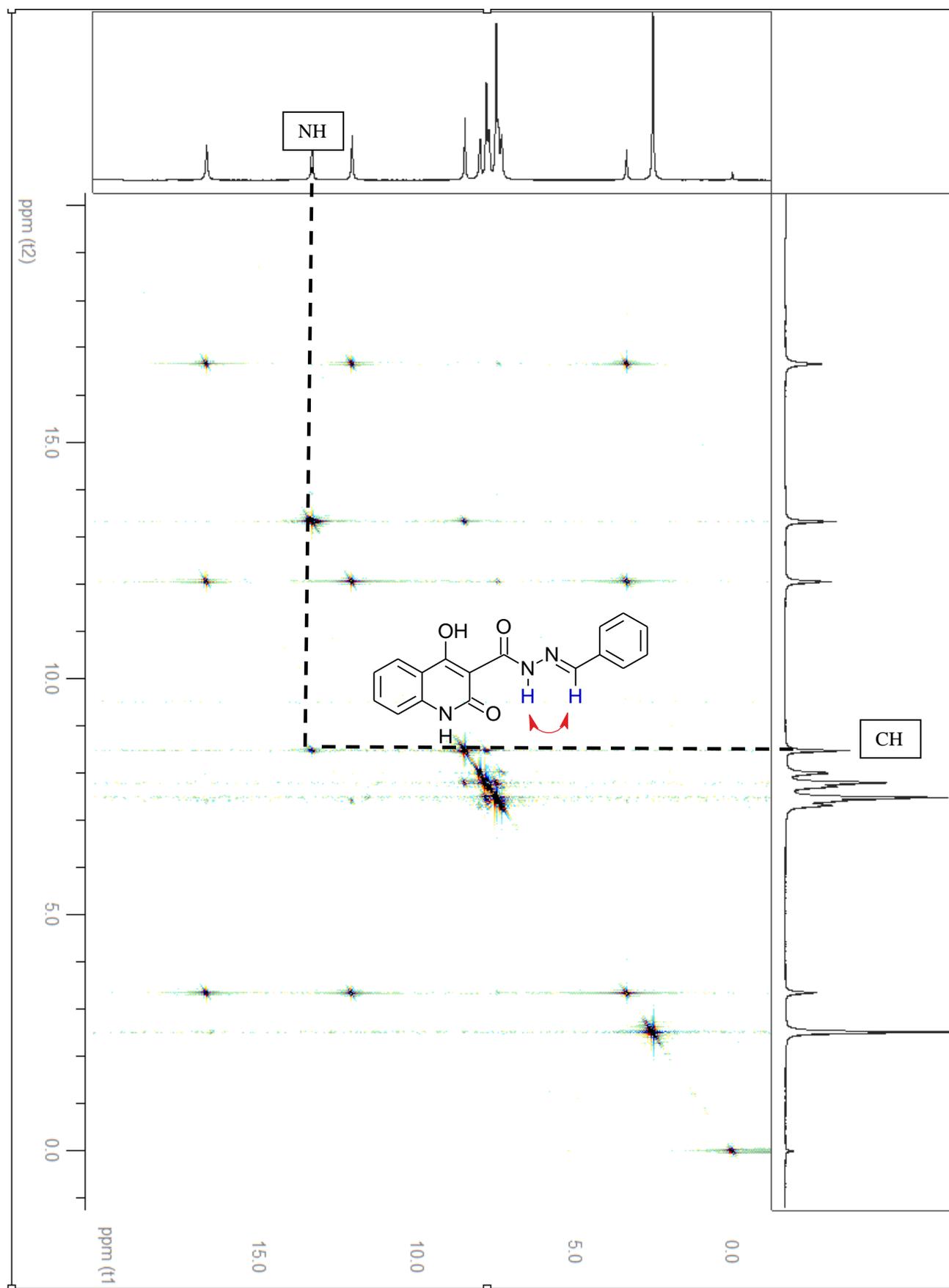
La dernière étape est une addition nucléophile sur le benzaldéhyde substitué ou non de l'hydrazide. Cette réaction se fait dans le DMSO en présence d'acide *ortho*-phosphorique comme catalyseur [155]. Ces conditions opératoires nous ont permis d'obtenir de très bons rendements. D'autres conditions ont été décrites dans la littérature. L'hydrazide étant facilement condensable en présence d'un aldéhyde, la réaction peut se faire dans l'éthanol absolu en présence d'un catalyseur basique comme la pipéridine [72]. Elle peut également se faire avec l'acide acétique jouant à la fois le rôle de solvant et de catalyseur [156].

Ce protocole nous donne les composés F7, F8 et F9 sous forme de mélange d'isomère *E* et *Z*. Les proportions sont respectivement de 9:1 ; 7:3 et 8:2. Alors que pour les composés F0 et F10 à F16, seul l'isomère *E* est obtenu. Les analyses RMN du proton et du carbone sont en accord avec les valeurs trouvées pour ces composés. L'attribution a été basée sur les expériences standards de

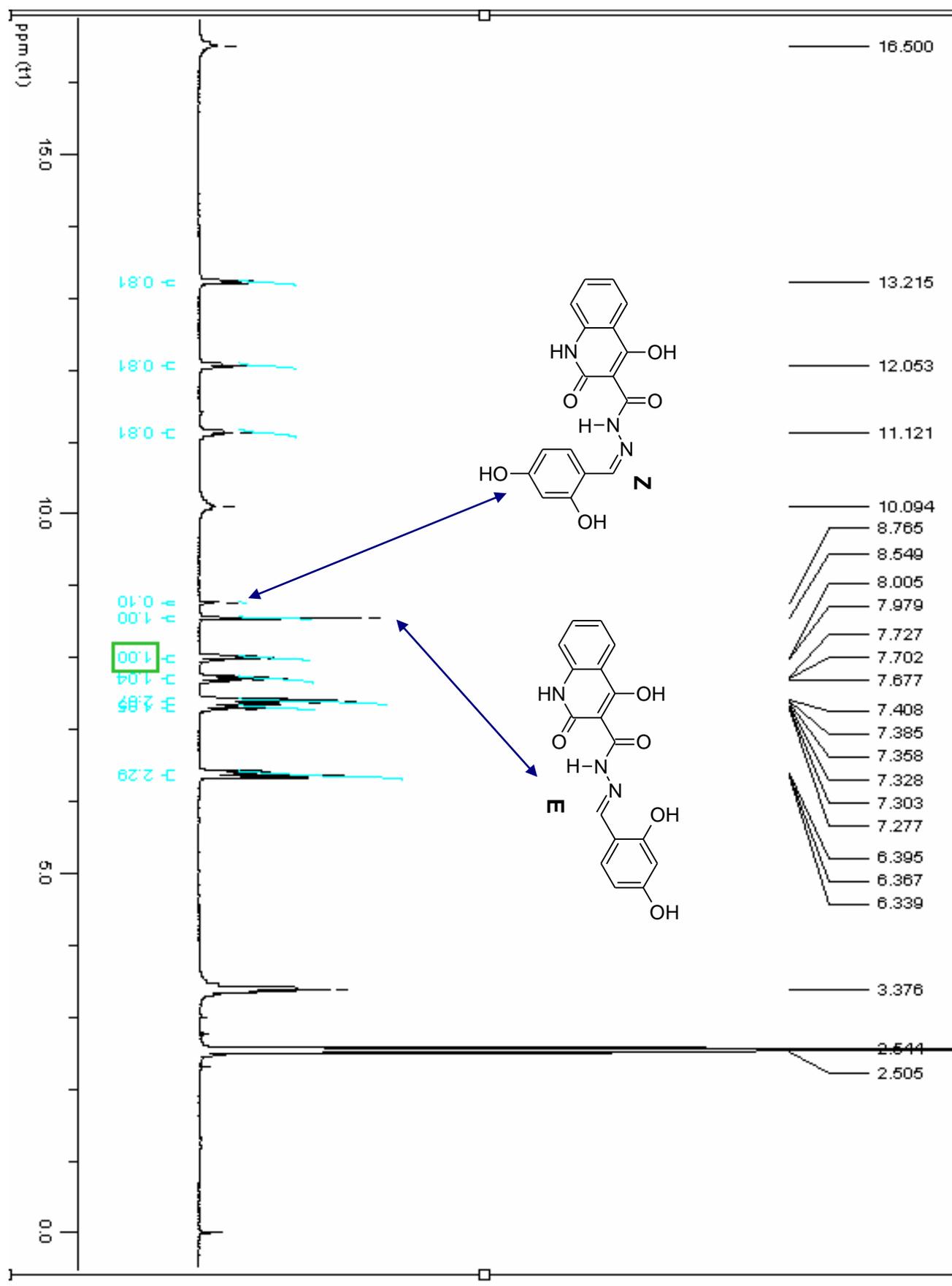
RMN (1H-1H NOESY, HMQC, HMBC). La caractérisation de ces composés a été réalisée avec la RMN-2D (1H-1H). Nous avons pour cela fait une analyse NOESY du composé F0 et étudié les effets NOE entre le NH du carbohydrazide et le CH de l'imine. Nous avons ainsi mis en évidence l'isomère *E*. La RMN <sup>1</sup>H du composé F0 nous permet de faire l'attribution du proton de l'imine (8.46 ppm) et celle du carbohydrazide (13.31 ppm).



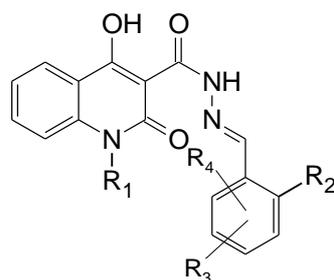
L'analyse de la NOESY du composé F0 présente une tâche de corrélation entre le NH du carbohydrazide et le CH de l'imine mettant en évidence l'isomère trans (*E*).



La RMN 1H du composé F7 montre la présence d'un mélange de l'isomère E (8.55 ppm) et de l'isomère Z (8.76 ppm) dont les proportions sont respectivement de 9 : 1.



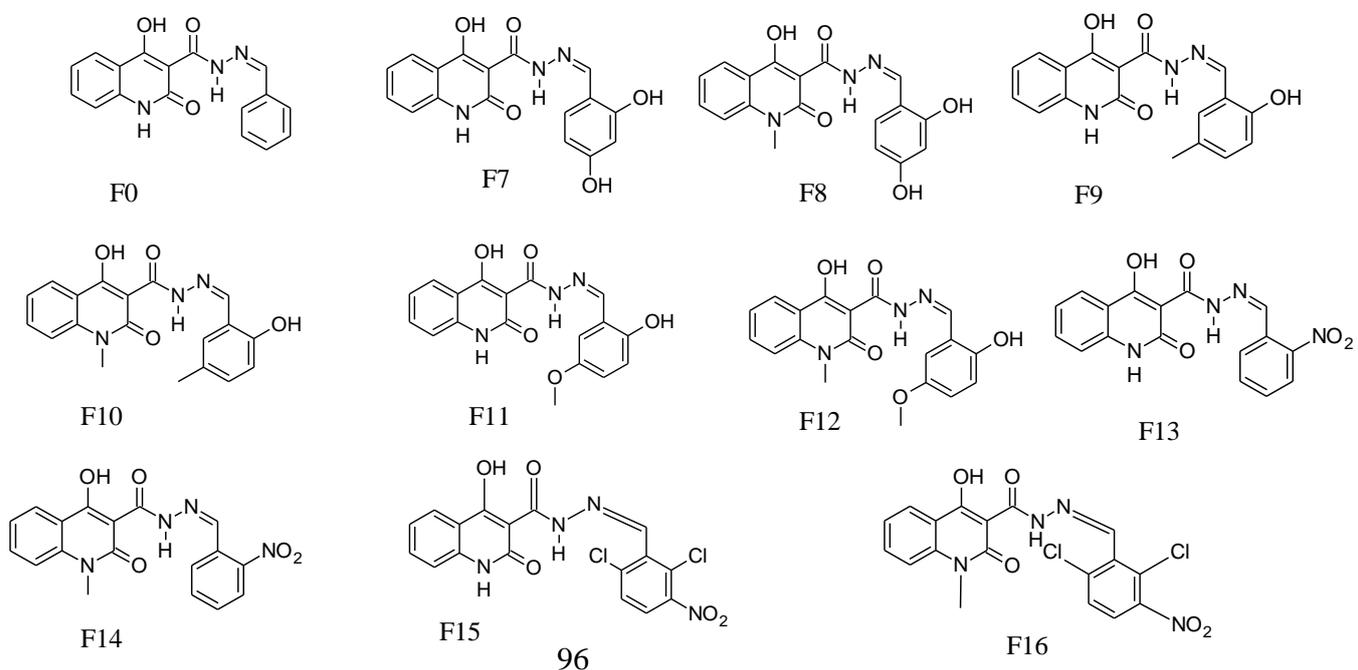
Ce schéma de synthèse nous conduit aux composés F7 à F16 répertoriés dans le tableau suivant, le rendement correspond à la dernière étape de synthèse :

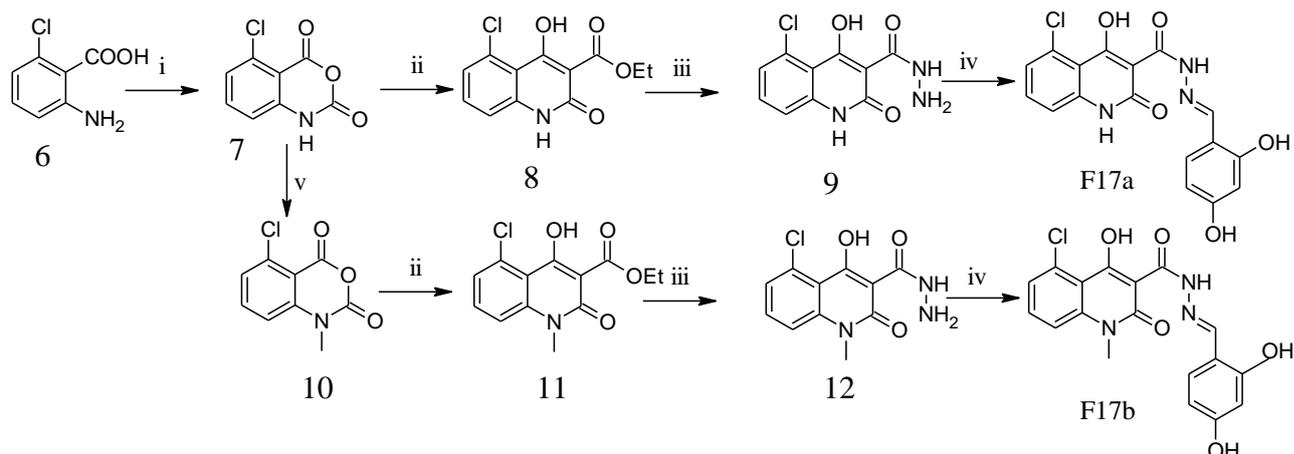


Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Rendement (%)
F0	H	H	H	H	90
F7	H	OH	4-OH	H	97
F8	CH <sub>3</sub>	OH	4-OH	H	79
F9	H	OH	5-CH <sub>3</sub>	H	81
F10	CH <sub>3</sub>	OH	5-CH <sub>3</sub>	H	93
F11	H	OH	5-OCH <sub>3</sub>	H	92
F12	CH <sub>3</sub>	OH	5-OCH <sub>3</sub>	H	84
F13	H	NO <sub>2</sub>	H	H	56
F14	CH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	H	92
F15	H	Cl	3-NO <sub>2</sub>	6-Cl	90
F16	CH <sub>3</sub>	Cl	3-NO <sub>2</sub>	6-Cl	91

**Tableau 4 :** Répertoire les sutilsuants et les rendements des composés F0, F7-F16

Cette série de synthèse nous a permis d'obtenir les composés suivants :



**2.2.2. A partir de l'acide anthranilique**


**Schéma 16 :** (i) triphosgène, dioxane, TA. (ii) malonate de diéthyle, NaH, DMF, 100°C. (iii) hydrazine, MeOH, 100°C. (iv) 2,4-dihydroxybenzaldéhyde, acide O-Phosphorique, DMSO, 100°C. (v) MeI, DIPEA, DMA, 40°C.

La première étape de cette synthèse est la formation du 5-chloro-anhydride isatoïque. Celui-ci peut-être obtenu directement à partir de l'acide 6-chloro-anthranilique. Cette réaction est décrite dans la littérature en présence de phosgène dans le dioxane [111]. Les propriétés volatiles (gaz à température ambiante) et la toxicité du phosgène ont rendu la mise au point de cette réaction délicate. Nous avons donc été conduits à modifier quelque peu cette réaction. C'est en s'appuyant sur une étude plus récente [157] que nous avons remplacé le phosgène par le triphosgène. Il est en général utilisé comme substitutif du phosgène. Il est solide à température ambiante et rend par conséquent plus facile sa manipulation.

Les étapes ii, iii et iv se réfèrent aux réactions décrites précédemment (Ch. III, 2.2).

L'étape 5 correspond à la méthylation du 5-chloro-anhydride isatoïque. Cette réaction s'appuie sur la méthodologie mise au point par Beutner, Kueth et al. La méthylation est réalisée en présence de l'iodure de méthyle (MeI) en milieu basique. Le composé est obtenu avec un bon rendement (70%). Il est également facilement isolable et relativement stable. Suivant les étapes ii, iii et iv, on obtient le composé F17b. Les composés sont obtenus avec des rendements de la dernière étape sont présentés dans le tableau qui suit :

Composés	Rendements (%)
F17a	54
F17b	39

**Tableau 5 :** Rendements des produits F17a et F17b

### 3. Les Tests physicochimiques

Différents tests ont été réalisés afin d'évaluer le potentiel antioxydant et chélateur de métaux de nos molécules.

La chélation des métaux a été réalisée en utilisant la spectroscopie UV. On a utilisé comme sel métallique le Cu(II), le Fe (II et III). Nous avons également effectué le test de la ferrozine permettant l'évaluation des composés comme chélateur du Fe (II).

Le potentiel antioxydant a été évalué par le piégeage du radical DPPH et de l'anion superoxyde.

#### *3.1. Test de chélation du Cu(II) et Fe(II et III)*

La formation d'un complexe métallique se traduit par un changement du spectre d'absorption de l'ion métallique et du ligand. La méthode consiste à ajouter différents équivalents du sel métallique. Dans le cas d'une chélation, on observera la disparition du maximum d'absorption de la molécule et l'apparition d'un maximum correspondant à l'absorption du complexe formé.

Pour mettre en évidence la formation de ce complexe, on introduira différents équivalents du sel métallique et on tracera les spectres UV entre 190 et 390 nm. Ceci permettra d'observer la variation du spectre.

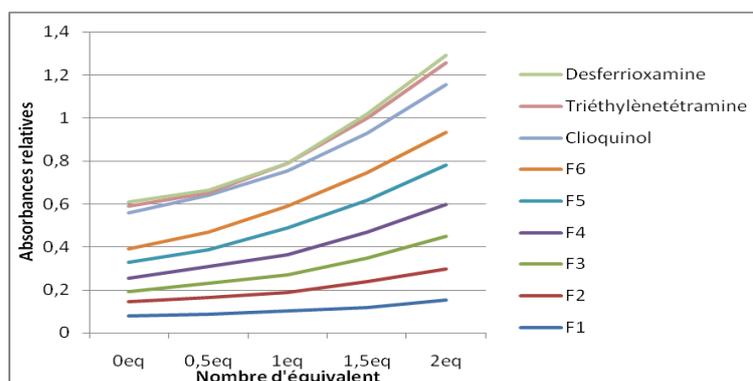
Les absorbances des composés de la série F1-F6 seront comparées afin de mettre en évidence les molécules possédant la meilleure affinité de chélation du métal. On va considérer que l'évolution des absorbances incombe à l'affinité du composé pour le métal. Ceci peut se faire car les composés ont une absorbance équivalente en absence de sel métallique. On pourra ainsi avoir un aperçu de leurs propriétés. En revanche, cette hypothèse ne pourra pas être considérée pour les composés de la deuxième série (F7-F17a). L'interprétation qualitative sera faite en considérant l'absorbance des molécules en l'absence des métaux.

### 3.1.1. Test de chélation avec $\text{CuCl}_2$

Les composés sont solubilisés dans un mélange EtOH/DMSO à une concentration de  $15\mu\text{M}$ . Pour chacun des composés, on enregistre le spectre d'absorbance en présence de différents équivalents du sel métallique. On pourra ainsi observer le changement de spectre dans le cas de la formation d'un complexe métallique. Les molécules de références pour ce test sont le clioquinol, la triéthylènetétramine et la desferrioxamine.

#### 3.1.1.1. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6)

Le tableau qui suit représente les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6) à 278nm.



**Graphique 1 :** Représentation des absorbances des composés F1-F6 et des références en présence de différents équivalents en  $\text{CuCl}_2$ . Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de cuivre (II). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

Pour cette série, on peut remarquer que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 2 on observe une augmentation de l'absorbance. Ceci traduisant la formation du complexe [molécule-Cu].

Chacun des composés de cette série présente une activité chélatrice du cuivre relativement proche. Le composé F5 semble présenter la meilleure affinité suivit par les composés F1 et F6 qui possèdent une affinité équivalente.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	1.5eq	2eq
<b>F1</b>	0,0795	0,0851	0,1012	0,1193	0,1544
<b>F2</b>	0,0678	0,0785	0,087	0,1188	0,145
<b>F3</b>	0,0468	0,069	0,0806	0,1098	0,1502
<b>F4</b>	0,0612	0,0763	0,094	0,1202	0,1478
<b>F5</b>	0,0723	0,0791	0,1253	0,1501	0,1831
<b>F6</b>	0,065	0,0803	0,1008	0,1292	0,1531
<b>Clioquinol</b>	0,1658	0,172	0,1644	0,1803	0,2232
<b>Triéthylènetétramine</b>	0,0304	0,0137	0,0353	0,0712	0,1013
<b>Desferrioxamine</b>	0,0207	0,0098	0	0,0203	0,0352

**Tableau 6 :** Valeurs des absorbances des composés F1-F6 en présence de 0-2eq en CuCl<sub>2</sub>

3.1.1.2.

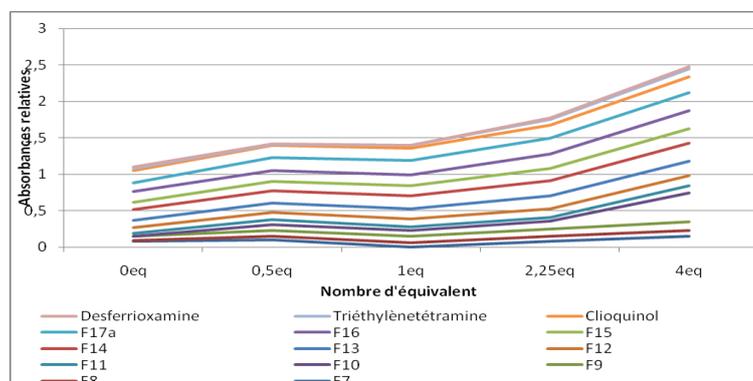
*Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a)*

Le tableau qui suit représente les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) à 278nm.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	2.25eq	4eq
<b>F7</b>	0,0764	0,0964	-	0,0835	0,1505
<b>F8</b>	0,0188	0,0587	0,0562	0,069	0,081
<b>F9</b>	0,0512	0,0733	0,0904	0,0964	0,1133
<b>F10</b>	0,0002	0,0766	0,0803	0,1117	0,4006
<b>F11</b>	0,0428	0,0754	0,0543	0,0445	0,0991
<b>F12</b>	0,0819	0,0986	0,1054	0,1209	0,1361
<b>F13</b>	0,0996	0,1246	0,1353	0,1747	0,2022
<b>F14</b>	0,1414	0,1709	0,1876	0,2087	0,2471
<b>F15</b>	0,1022	0,1322	0,1377	0,1718	0,2
<b>F16</b>	0,1481	0,1411	0,149	0,1999	0,2425
<b>F17a</b>	0,1247	0,1783	0,1976	0,2167	0,2459
<b>Clioquinol</b>	0,1658	0,172	0,1644	0,1803	0,2232
<b>Triéthylènetétramine</b>	0,0304	0,0137	0,0353	0,0712	0,1013
<b>Desferrioxamine</b>	0,0207	0,0098	0	0,0203	0,0352

**Tableau 7 :** Valeurs des absorbances des composés F7-F17a en présence de 0-4eq en CuCl<sub>2</sub>

Pour cette série, on peut remarquer que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 4 on observe une augmentation de l'absorbance. Ceci traduisant la formation du complexe [molécule-Cu].



**Graphique 2 :** Représentation des absorbances des composés F7-F17a et des références en présence de différents équivalents en CuCl<sub>2</sub>. Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de cuivre (II). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

Chacun des composés de cette série présente une activité chélatrice du cuivre relativement proche. Le composé F17a possède la meilleure affinité pour le cuivre. Cependant, le composé F10 présente une forte absorbance en présence de quatre équivalents de CuCl<sub>2</sub>.

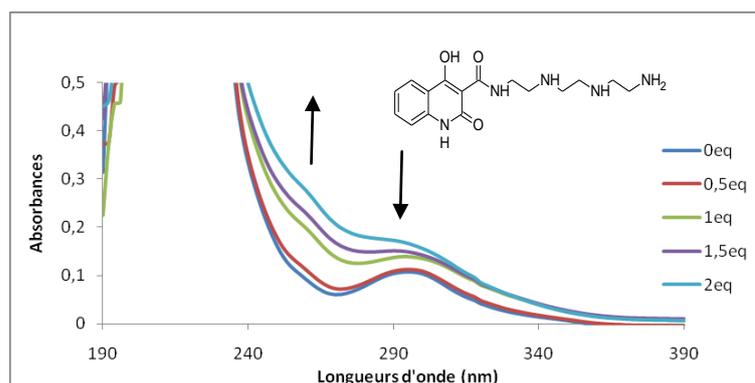
### 3.1.1.3.

### En conclusion

On observe pour les composés F1-F6 que l'absorbance s'accroît avec l'augmentation du nombre d'équivalent en sel de cuivre. On met ainsi en évidence la formation du complexe [molécule-Cu] mais aussi un potentiel important comme chélateur du cuivre des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides. L'affinité du composé F5 par rapport aux autres molécules montre l'importance de la longueur de la chaîne aminée et l'absence du N-méthyle.

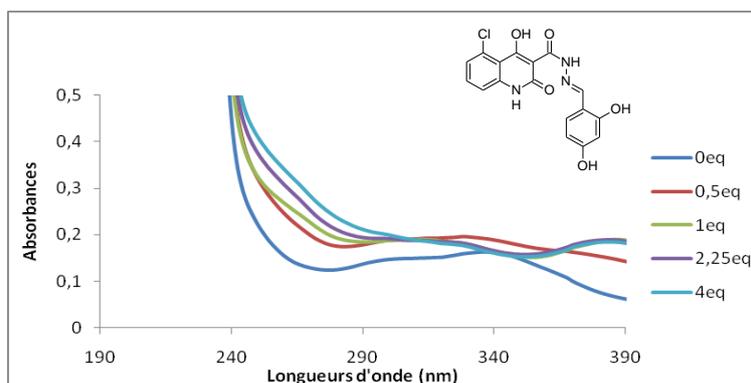
Pour les composés F7-F17a on observe également une augmentation de l'absorbance en présence de sel de cuivre. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides présentent des propriétés chélatrices du Cu(II). Mais l'activité reste assez modérée pour l'ensemble des composés. Le composé F17a diffère des autres par la présence du chlore sur le noyau aromatique de la quinoléine. De plus, nous avons vu que le composé F10 se comporte différemment en présence de quatre équivalents de CuCl<sub>2</sub>.

Le tracé de l'absorbance en fonction du nombre d'équivalents de  $\text{CuCl}_2$  a été réalisé. Il nous permet de mettre en évidence que les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides sont de meilleurs chélateurs du cuivre que les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. Les graphiques qui suivent ne montreront le composé ayant montré la meilleure corrélation pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F5) et un exemple pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. On observe dans le cas du composé F5 une modification du spectre avec une augmentation d'absorbance vers 278nm et une diminution à 295nm.



**Graphique 3a :** Spectre UV du composé F5

D'une manière générale, cette modification du spectre n'est pas observée pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. Les absorbances restent constantes en présence des différents équivalents de cuivre.



**Graphique 3b :** Spectre UV du composé F17a

L'évolution est bien plus marquée pour le composé F5 que pour le composé F17a. En résumé, les composés F1-F17a ont montré un potentiel chélateur du cuivre (II) intéressante. La série F1-F6 ayant une activité plus marquée que les composés F7-F17a.

### 3.1.2. Test de chélation avec FeSO<sub>4</sub>

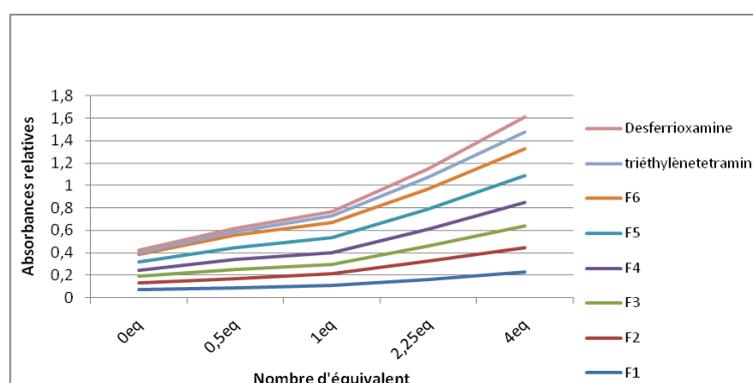
De même que pour le test avec CuCl<sub>2</sub>, la formation du complexe se traduit par un changement du spectre UV. Les composés sont solubilisés dans les mêmes conditions que précédemment. Les molécules en références pour ce test sont la triéthylènetétramine et la desferrioxamine.

#### 3.1.2.1. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6)

Les tableaux qui suivent représentent les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6) à 270nm.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	2.25eq	4eq
<b>F1</b>	0,0732	0,0863	0,1065	0,1643	0,2259
<b>F2</b>	0,0609	0,0822	0,1093	0,1634	0,2221
<b>F3</b>	0,0548	0,0805	0,0811	0,1302	0,1927
<b>F4</b>	0,0553	0,0877	0,1033	0,1505	0,2103
<b>F5</b>	0,0717	0,1102	0,1327	0,1807	0,2404
<b>F6</b>	0,0677	0,1077	0,1375	0,1766	0,2331
<b>Triéthylènetétramine</b>	0,0183	0,0363	0,0612	0,1071	0,1562
<b>Desferrioxamine</b>	0,0242	0,0232	0,0333	0,0777	0,1295

**Tableau 8 :** Valeurs des absorbances des composés F1-F6 en présence de 0-4eq en FeSO<sub>4</sub>



**Graphique 4 :** Représentation en bâton des absorbances des composés F1-6 et des références en présence de différents équivalents en FeSO<sub>4</sub>. Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de fer (II). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

Pour cette expérience, on remarque que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 4 on constate une augmentation de l'absorbance. Ceci traduisant l'apparition du complexe [molécule-Fe].

L'affinité de chacun des composés pour Fe (II) est équivalente. Le composé F6 est celui qui présente la meilleure affinité avec le composé F5. On retrouve dans ce test l'importance de la

longueur de chaîne aminée. Cet ordre s'inverse en présence de quatre équivalents, mais les deux valeurs restent comparables.

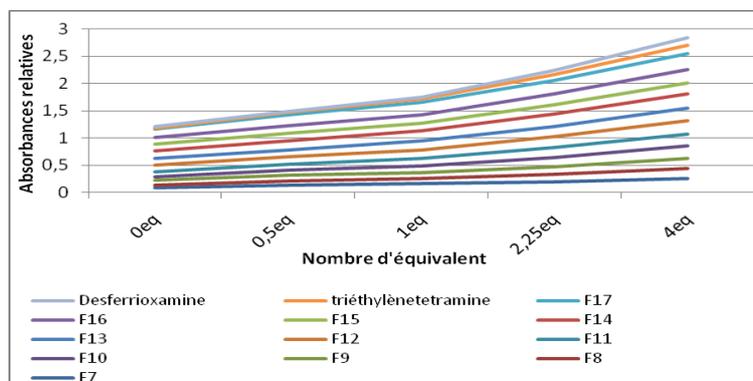
3.1.2.2. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a)

Le tableau qui suit représente les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) à 270nm.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	2.25eq	4eq
F7	0,0822	0,134	0,1629	0,1946	0,2595
F8	0,045	0,0759	0,0924	0,1347	0,1798
F9	0,0921	0,1027	0,1158	0,1455	0,1934
F10	0,066	0,0965	0,117	0,1647	0,2249
F11	0,0922	0,1129	0,1342	0,1799	0,2204
F12	0,1303	0,1352	0,1606	0,2006	0,2488
F13	0,1111	0,1264	0,1665	0,1877	0,2259
F14	0,1491	0,1671	0,18	0,2309	0,2552
F15	0,1175	0,1312	0,1429	0,1774	0,2045
F16	0,129	0,1382	0,1476	0,1916	0,2515
F17a	0,1521	0,2146	0,2349	0,2475	0,2882
Triéthylènetétramine	0,0183	0,0363	0,0612	0,1071	0,1562
Desferrioxamine	0,0242	0,0232	0,0333	0,0777	0,1295

**Tableau 9 :** Valeurs des absorbances des composés F7-F17a en présence de 0-4eq en FeSO<sub>4</sub>

Pour cette expérience, on remarque que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 4 on observe une augmentation significative de l'absorbance. Ceci traduisant l'apparition du complexe [molécule-Fe].



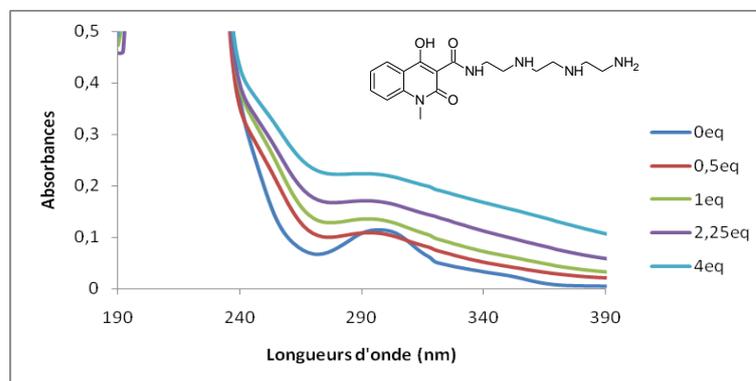
**Graphique 5 :** Représentation des absorbances des composés F7-F17a+ références en présence de différents équivalents en FeSO<sub>4</sub>. Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de fer (II). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

Tous les composés présentent une préférence du même ordre pour Fe(II). On retrouve la meilleure affinité pour le composé F17a. Le composé F10 présente une absorption importante en présence de quatre équivalents.

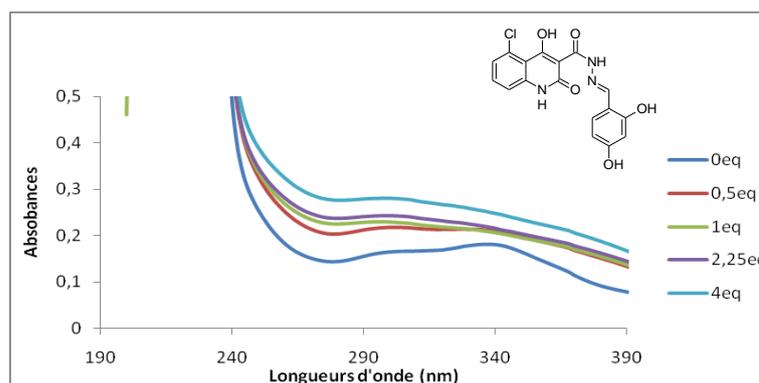
3.1.2.3.

En conclusion

De même que pour le cuivre (II), nous avons réalisé le tracé de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde et du nombre d'équivalents en FeSO<sub>4</sub>. Deux composés sont pris à titre d'exemple pour chacune des séries. Le composé F6 pour les Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides et F17a pour les Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides.



**Graphique 6a :** Spectre UV du composé F6



**Graphique 6a :** Spectre UV du composé F17a

En comparant les spectres d'absorption des composés F6 et F17a, on observe que la variation du spectre du composé F6 et celle du composé F17a sont du même ordre.

Il en résulte que les composés F1-F17 présente ainsi une activité chélatrice du fer (II) intéressante. On ne peut pas faire de distinction pour donner une série plus chélatrice que la seconde. On retrouve pour ce test l'intérêt du composé F17a d'où l'importance d'un substituant chloré.

### 3.1.3. Test de chélation avec FeCl<sub>3</sub>

De même que pour le test avec CuCl<sub>2</sub> et FeSO<sub>4</sub>, la formation du complexe se traduit par un changement du spectre UV. Celui-ci est dû à l'absorption de l'ion métallique et du ligand. Les molécules en références pour ce test sont la triéthylènetétramine et la desferrioxamine.

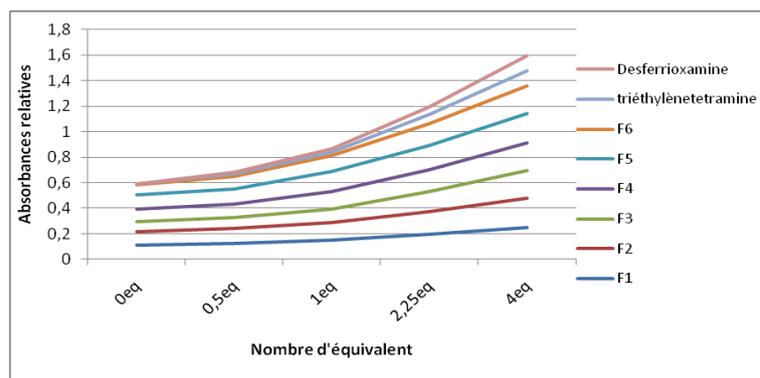
#### 3.1.3.1. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6)

Le tableau qui suit représente les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6) à 260nm.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	2.25eq	4eq
<b>F1</b>	0,1084	0,1208	0,1531	0,1943	0,2482
<b>F2</b>	0,1097	0,1217	0,1333	0,1824	0,2299
<b>F3</b>	0,0772	0,0823	0,1098	0,1557	0,2149
<b>F4</b>	0,1006	0,1092	0,1345	0,1709	0,2182
<b>F5</b>	0,1081	0,1164	0,156	0,1919	0,2319
<b>F6</b>	0,0794	0,1012	0,1241	0,167	0,2189
<b>Triéthylènetétramine</b>	0,0037	0,0167	0,0312	0,0717	0,1148
<b>Desferrioxamine</b>	0,0034	0,0146	0,0252	0,0617	0,1155

**Tableau 10 :** Valeurs des absorbances des composés F1-F6 en présence de 0-4eq en FeCl<sub>3</sub>

Dans cette expérience, on note que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 4. On obtient une augmentation de l'absorbance. Ceci traduisant l'apparition du complexe [molécule-Fe].



**Graphique 7 :** Représentation en bâton des absorbances des composés F1-F6 et des références en présence de différents équivalents en FeCl<sub>3</sub>. Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de fer (III). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

On retrouve pour ce test une tendance identique à la chélation du cuivre (II). Le composé F5 présente la meilleure affinité en présence d'un équivalent en sel métallique. La tendance change en présence de quatre équivalents. Le composé F1 présente alors la meilleure affinité. Cependant, les variations des absorbances sont équivalentes pour chacun des composés.

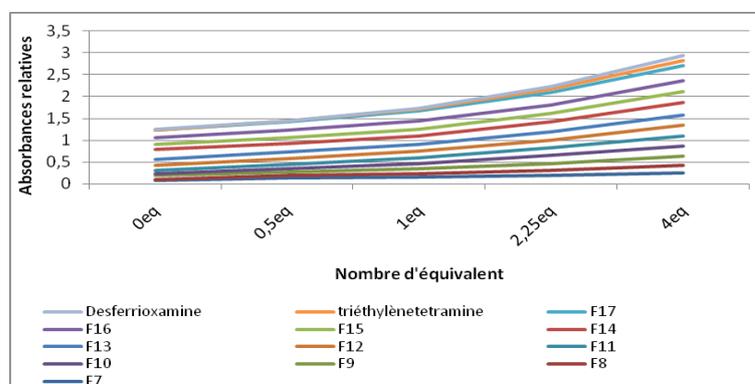
3.1.3.2. Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a)

Le tableau qui suit représente les valeurs d'absorbances des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) à 260nm.

Molécules	0eq	0.5eq	1eq	2.25eq	4eq
F7	0,0728	0,1398	0,1638	0,1993	0,2485
F8	0,0333	0,0545	0,0746	0,1152	0,1751
F9	0,0848	0,0806	0,1046	0,1587	0,2152
F10	0,0508	0,0748	0,126	0,1757	0,2256
F11	0,0619	0,1023	0,1336	0,1735	0,2406
F12	0,1267	0,1359	0,1483	0,1881	0,2426
F13	0,1238	0,1405	0,1628	0,188	0,2391
F14	0,2423	0,1902	0,1901	0,2288	0,2821
F15	0,1165	0,1353	0,1527	0,1869	0,2406
F16	0,1498	0,1694	0,1881	0,2002	0,2646
F17a	0,1719	0,1973	0,2318	0,2814	0,3329
Triéthylènetétramine	0,0037	0,0167	0,0312	0,0717	0,1148
Desferrioxamine	0,0034	0,0146	0,0252	0,0617	0,1155

**Tableau 11 :** Valeurs des absorbances des composés F7-F17a en présence de 0-4eq en FeCl<sub>3</sub>

Dans cette expérience, on note que pour un rapport M/L augmentant de 0 à 4. On obtient une augmentation de l'absorbance. Ceci traduisant l'apparition du complexe [molécule-Fe].

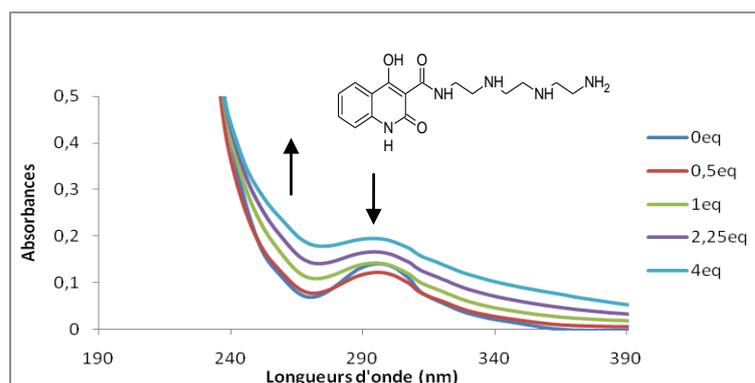


**Graphique 8 :** Représentation en bâton des absorbances des composés F1-F6+ références en présence de différents équivalents en FeCl<sub>3</sub>. Le graphique permet d'observer l'évolution des absorbances en fonction des différents équivalents de fer (III). Pour une meilleure lisibilité les absorbances de chaque composé est décalée.

Dans ce cas, il semblerait, par comparaison des absorbances présentes dans le tableau 11 que les composés F10 et F11 seraient de meilleurs chélateurs du fer (III). On retrouverait également le composé F17a dans le trio de tête.

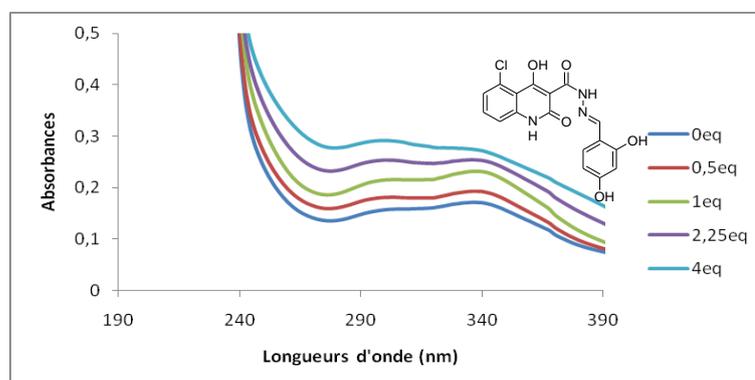
3.1.3.3. En conclusion

La comparaison du spectre d'absorbance des composés F5 et F17a permet de comparer les différences entre les deux séries. Les graphiques qui suivent ne montreront le composé ayant montré la meilleure corrélation pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F5) et un exemple pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. On observe dans le cas du composé F5 une modification du spectre avec une augmentation d'absorbance vers 278nm et une diminution à 295nm.



**Graphique 9a :** spectre UV de la molécule F5

Cette modification du spectre n'est pas observée d'une manière générale pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. Les absorbances restent constantes en présence des différents équivalents de cuivre.



**Graphique 9b :** spectre UV de la molécule F17a

Les résultats présentés pour Fe(III) sont comparables pour les deux séries. L'évolution du spectre pour les deux molécules n'est pas significativement différente.

Les résultats obtenus à partir de ces tests ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$ ) nous montrent que ces deux séries possèdent des propriétés chélatrices. On peut considérer que la première série F1-F6 a une affinité comme chélateur des métaux supérieure à la seconde (F7-F17a).

Cependant, il faut garder à l'esprit que nous avons obtenus ces conclusions de façon qualitative. Le test de la ferrozine va permettre de traduire cette tendance de façon quantitative.

### 3.2. Test de chélation à la Ferrozine

C'est un test colorimétrique basé sur la chélation de l'ion ferreux  $Fe^{2+}$  par la ferrozine [158]. Une intense couleur magenta apparaît lorsque le complexe est formé (figure 22). La ferrozine ne se lie pas avec l'ion  $Fe^{3+}$ . Le complexe formé avec  $Fe^{2+}$  absorbe à 550nm.



**Figure 22 :** Représentation du ligand ferrozine en présence et absence de fer [159, 160] images issues d'un tutorial.

Ce test va nous permettre de quantifier les résultats précédemment obtenus. On pourra ainsi définir les  $IC_{50}$  de ces composés. Ceux-ci représenteront la concentration nécessaire en composé pour que 50% de la quantité totale de  $Fe^{2+}$  présent dans le milieu soit piégé. Ces résultats vont déterminer un ordre du potentiel chélateur.

#### 3.2.1. Evaluation de l'activité des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides

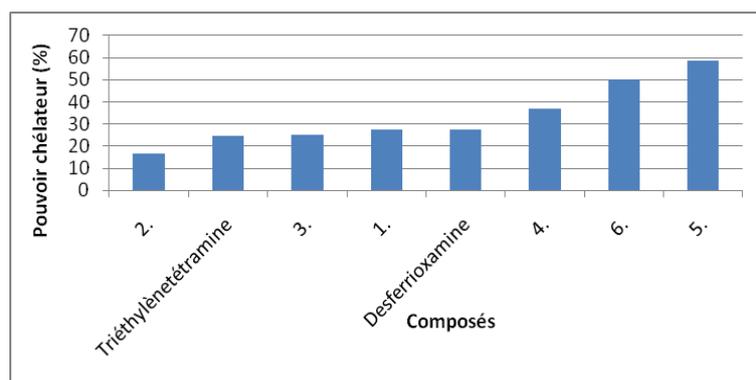
Le tableau représenté ci-contre répertorie les pourcentages de chélation du Fe (II). Ils sont comparés pour une concentration de 100 $\mu$ M.

On constate que les composés F4, F5 et F6 présentent un fort pouvoir chélatant supérieur à la triéthylènetétramine et la desferrioxamine.

Composés	100 $\mu$ M (%)	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
F1	27,40	179
F2	16,68	>400
F3	25,24	172
F4	37,00	142
F5	58,39	77,2
F6	50,33	102
Triéthylènetétramine	24,88	>400
Desferrioxamine	27,59	>400

**Tableau 12 :** Poucentages d'inhibition du fer (II) à une concentration de 100 $\mu$ M et  $IC_{50}$  en  $\mu$ M

Les composés F3 et F1, ont un pouvoir chélatant supérieur à la triéthylènetétramine pris comme référence. Seul le composé F2 ne présente pas une activité supérieure aux deux références.



**Graphique 10 :** Représentation en bâton du potentiel chélateur à 100 $\mu$ M classée par ordre croissant d'affinité

Le graphique 10 classe les composés F1-F6 du moins chélatant au plus chélatant pour une concentration référence de 100 $\mu$ M. Les références sont également représentées afin de situer le potentiel de nos composés. On peut ainsi donner l'ordre suivant qui sera comparé avec les résultats obtenus pour le pharmacophore établi :

F5>F6>F4>Desferrioxamine>F1>F3>Triéthylènetétramine>F2.

### **3.2.1. Evaluation de l'activité des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides**

Le tableau représente les pourcentages d'inhibition du Fe<sup>2+</sup> à une concentration de 100 $\mu$ M. On retrouve également l'IC<sub>50</sub> en  $\mu$ M pour certains composés. On constate que les composés F7, F8, F11, F12, F13, F15, F16 et F17a se sont révélés meilleurs chélateurs que la triéthylènetétramine et que la desferrioxamine.

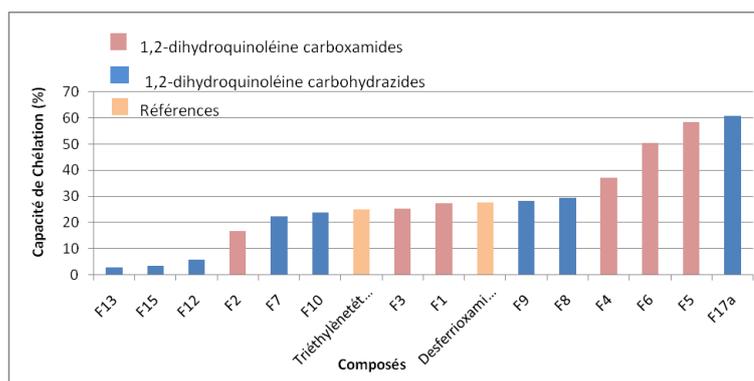
<b>Composés</b>	<b>100<math>\mu</math>M (%)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (<math>\mu</math>M)</b>
<b>F7</b>	22,24	<b>287</b>
<b>F8</b>	29,49	<b>217</b>
<b>F9</b>	28,36	-
<b>F10</b>	23,90	-
<b>F11</b>	0	<b>179</b>
<b>F12</b>	5,72	<b>287</b>
<b>F13</b>	2,89	<b>234</b>
<b>F14</b>	-	-
<b>F15</b>	3,50	<b>253</b>
<b>F16</b>	0	<b>241</b>
<b>F17a</b>	60,76	<b>33,1</b>
<b>Triéthylènetétramine</b>	24,88	<b>&gt;400</b>
<b>Desferrioxamine</b>	<b>27,59</b>	<b>&gt;400</b>

**Tableau 13 :** Pourcentages d'inhibition de Fe<sup>2+</sup> pour une concentration de 100 $\mu$ M et IC<sub>50</sub> en  $\mu$ M

Cependant seuls les composés F8, F9 et F17a ont un pourcentage d'inhibition supérieur aux références pour une concentration de 100µM.

Le graphique ci-après classe les composés F1-F17 du moins chélatant au plus chélatant à une concentration de 100µM.

Celui-ci nous permet ainsi de comparer la première série (F1-F6) et la deuxième (F7-F17a).

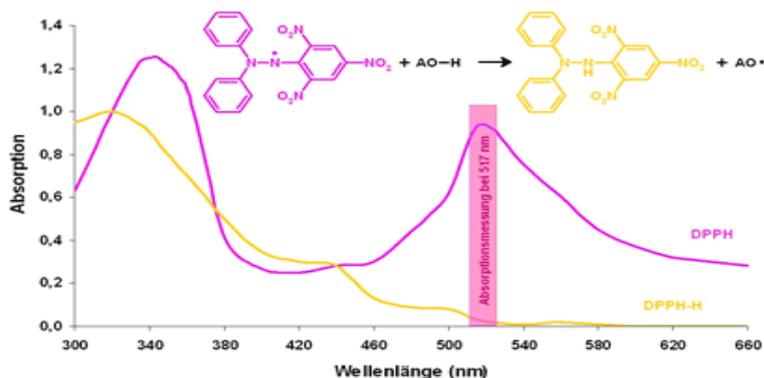


**Graphique 11 :** Représentation en bâton des pourcentages d'inhibition à 100µM

Comme nous l'attendions, les composés de la première série sont globalement de meilleurs chélateurs du Fe(II). On remarque cependant que trois composés de la deuxième série se distinguent. Le composé F17a, s'avère être le meilleur chélateur. Les composés F8 et F9 ont des capacités d'inhibition à 100µM supérieur aux composés F1 et F3. Ces derniers possèdent un IC<sub>50</sub> respectif de 179 et 172µM. Il est supérieur à celui de F8 (217µM) et F9 qui n'en possède pas.

### 3.3. Test au DPPH

1,1-Diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est un radical libre stable qui possède un électron libre sur l'atome d'azote. Le piégeage du radical libre DPPH est très utilisé comme test antioxydant [161].

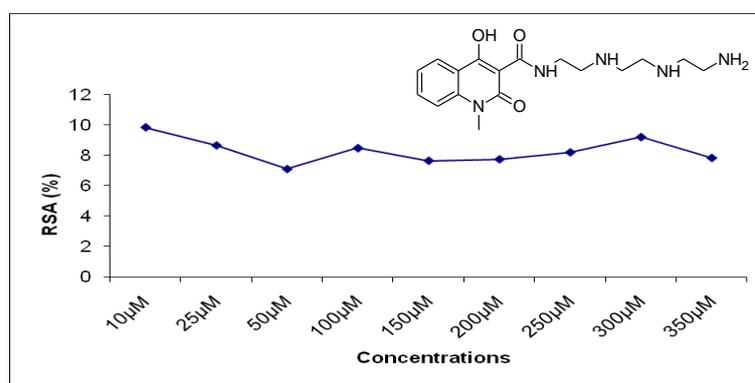


**Figure 23 :** Spectres UV du DPPH

Dans notre cas les mesures sont effectuées à 570nm. Les composés utilisés comme références pour ce test sont, la quercétine, la curcumine et le resvératrol.

### 3.3.1. Evaluation des propriétés antioxydantes des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides

Le composé F6 a été pris comme exemple. Le graphique montre que lorsque la concentration du composé augmente le pourcentage antioxydant reste constant.



**Graphique 12 :** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration

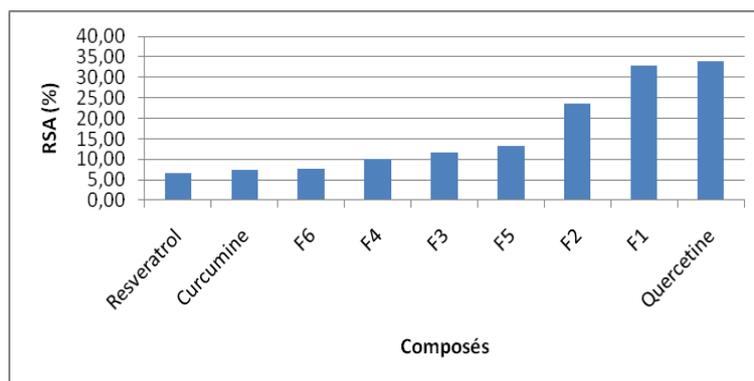
Cependant il est à noter que l'activité antioxydante de ces composés reste faible. On peut supposer que la faible activité antioxydante est due à la présence d'un hydrogène labile en position 4 permet.

Le tableau représente le faible potentiel antioxydant de cette série pour une concentration de 150µM.

Composés	RSA (%) à 150 µM	IC50 (µM)
<b>F1</b>	32,85	<b>&gt;350</b>
<b>F2</b>	23,56	<b>&gt;350</b>
<b>F3</b>	11,53	-
<b>F4</b>	10,09	-
<b>F5</b>	13,25	-
<b>F6</b>	7,66	-
<b>Quercétine</b>	33,83	<b>243</b>
<b>Curcumine</b>	7,43	<b>&gt;350</b>
<b>Resvératrol</b>	6,55	<b>&gt;350</b>

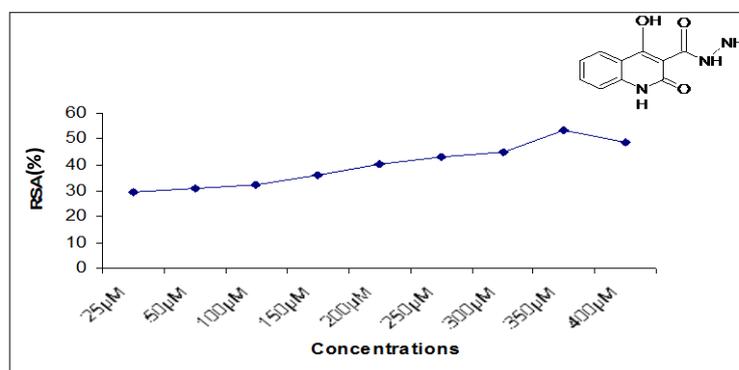
**Tableau 14:** Pourcentages d'inhibition pour une concentration de 150µM et IC<sub>50</sub>

A partir de ces résultats une représentation graphique peut être faite afin de classer les composés du moins oxydant au plus oxydant pour une concentration de 150 $\mu$ M.

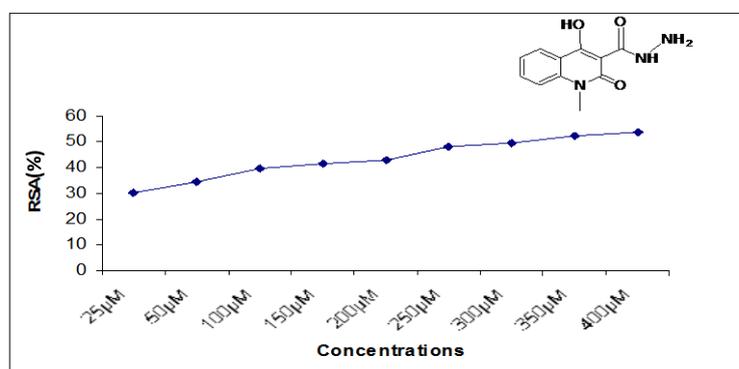


**Graphique 13 :** Représentation en bâton des pourcentage d'inhibition à 150 $\mu$ M

Le potentiel antioxydant moyen pour cette série est de 10%. Seuls les composés F1 et F2 sortent du lot. Ils possèdent des activités respectivement de 32 et 23% à 150 $\mu$ M. Ils ont à cette concentration plus d'activité que la curcumine et le resvératrol. Il est également à noter que leur activité est croissante en fonction de la concentration.



**Graphique 14a :** Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration pour le composé F1



**Graphique 14b :** Pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration pour le composé F2

### 3.3.2. Evaluation des propriétés antioxydantes des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides

A partir de ces résultats, les composés pourront être classés selon leur capacité à piéger le radical DPPH.

Le tableau ci-dessous répertorie le pourcentage d'inhibition des composés F7-F17a à une concentration de 150 $\mu$ M.

Composés	RSA (%) à 150 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>F7</b>	13,19	-
<b>F8</b>	19,13	-
<b>F9</b>	15,82	-
<b>F10</b>	16,28	-
<b>F11</b>	16,07	-
<b>F12</b>	19,75	-
<b>F13</b>	36,39	-
<b>F14</b>	35,60	-
<b>F15</b>	25,69	-
<b>F16</b>	45,45	>350
<b>F17a</b>	33,40	-
<b>Quercétine</b>	33,83	243
<b>Curcumine</b>	7,43	>350
<b>Resvératrol</b>	6,55	>350

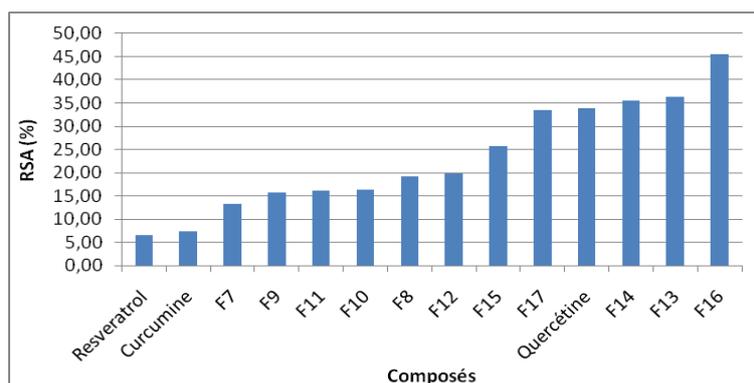
**Tableau 15 :** Pourcentages d'inhibition à une concentration de 150 $\mu$ M et IC<sub>50</sub>

Malheureusement, aucun IC<sub>50</sub> n'a pu être déterminé pour cette série de composés. Ceci en raison du fait que, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour une concentration en molécule variant de 10 à 350  $\mu$ M, est inférieur à 50%. Seul le composé F16 s'en rapproche avec une inhibition de 45% pour une concentration de 150 $\mu$ M.

On constate que les composés ont tous une activité supérieure à la curcumine et au resvératrol pour une concentration de 150 $\mu$ M. De plus, les composés F13, F14 et F16 présentent une activité supérieure à la quercétine.

Le graphique 15 permet une représentation visuelle du composé le moins antioxydant au composé le plus antioxydant. On obtient ainsi le classement suivant pour une concentration de 150 $\mu$ M :

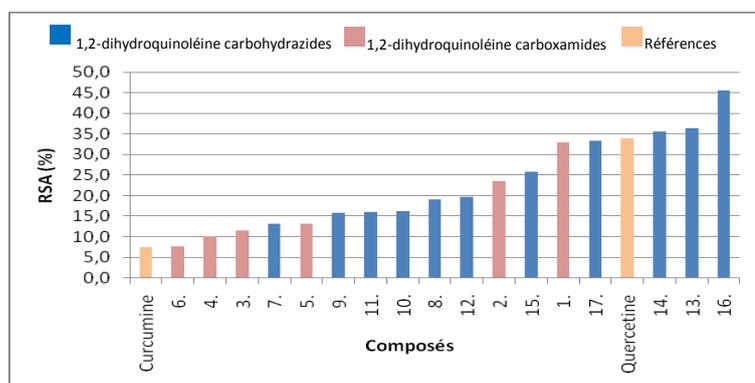
Resvératrol>Curcumine>F7>F9>F11>F10>F8>F12>F15>F17a>Quercétine>F14>F13>F16.



**Graphique 15 :** Pourcentages d’inhibition en fonction des composés

Cet ordre sera comparé aux autres tests antioxydant mais également au pharmacophore établi.

Le graphique 16 classe les composés F1-F17a selon un potentiel antioxydant croissant à une concentration de 150µM. Celui-ci nous permet de comparer la première série (F1-F6) et la deuxième (F7-F17a).



**Graphique 16 :** RSA en fonction des composés classés selon leur activité croissante pour une concentration de 150µM

Il ressort d’après ce graphique que les composés F6-F17a sont globalement des composés antioxydants. On retrouve les composés F1et F2 avec des activités intéressantes.

### 3.4. Test antioxydant de l’anion superoxyde

L’anion superoxyde est une forme réduite de la molécule d’oxygène créé en recevant un électron. Ce radical libre est formé à partir du système de transport d’électron mitochondriale.

L’anion superoxyde est estimé par la mesure spectrophotométrique du produit de réduction du nitrobleu tetrazolium (TNB). L’ion superoxyde est généré par le système [phénazine méthosulfate/ $\beta$ -NADH].

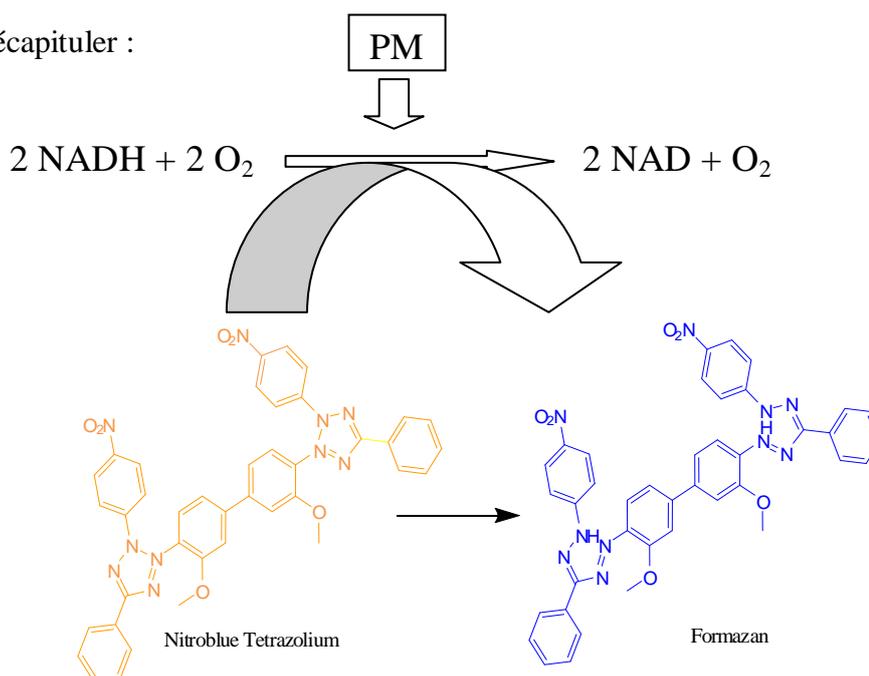
La réaction se produit en 2 étapes, la première est l'oxydation de NADH par la phénazine méthosulfate et la création d'une quantité équimolaire de superoxyde.



La seconde est la réduction du TNB, où une molécule de TNB est réduite par deux molécules du superoxyde par transfert d'électron.



Pour récapituler :

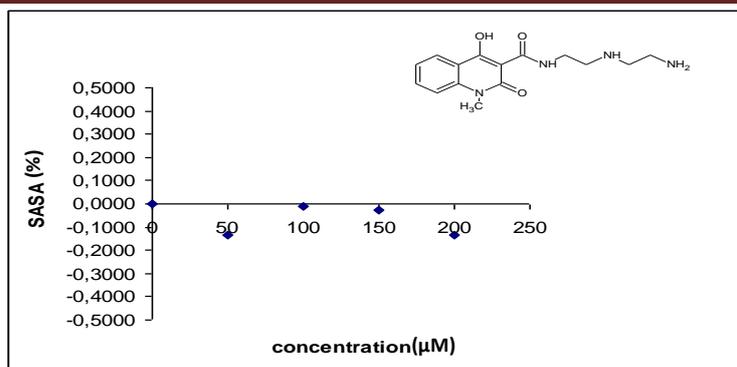


**Schéma 17** : Récapitulatif des réactions impliquées dans le test de l'anion superoxyde

Le composé qui est pris en référence pour ce test est la quercétine.

### **3.4.1. Evaluation des propriétés des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides**

Le composé qui a été pris en référence est la quercétine. Rappelons que ce test permet d'évaluer le potentiel de nos composés à piéger les radicaux O<sub>2</sub><sup>·-</sup>. Le composé pris ici à titre d'exemple est le composé F4. On remarque que l'activité envers les radicaux O<sub>2</sub><sup>·-</sup> est nulle.



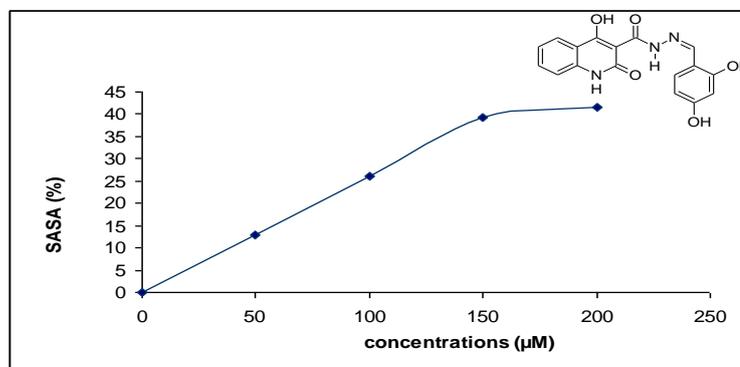
**Graphique 17 :** SASA en fonction de la concentration pour le composé F4

Le tableau ci-après décrit les valeurs antioxydantes à 100µM. On retrouve les composés F1 et F2 avec des pourcentages respectifs de 33 et 40%. Ce qui corrobore les résultats précédemment obtenus

Composés	SASA (%) à 100µM	IC <sub>50</sub> (µM)
<b>F1</b>	33,06	<b>154</b>
<b>F2</b>	40,47	<b>131</b>
<b>F3</b>	26,22	-
<b>F4</b>	0	-
<b>F5</b>	0	-
<b>F6</b>	5,56	-
<b>Quercétine</b>	81,96	<b>29</b>

**Tableau 16 :** Pourcentages d'inhibition pour une concentration de 100µM et les IC<sub>50</sub> en µM

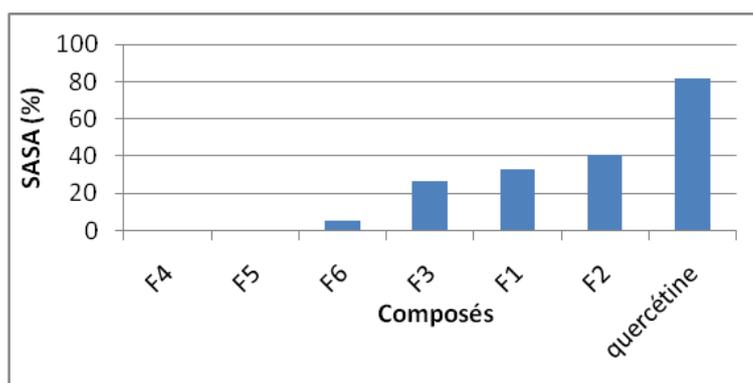
En revanche le composé F3 sort du lot. Celui-ci a présenté lors de ce test un potentiel antioxydant de 26% vis-à-vis des radicaux O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Le SASA semble se stabiliser à 40% pour une concentration de 15µM ne permettant pas de déterminer un IC<sub>50</sub>.



**Graphique 18 :** Evolution de l'activité du composé F3 en fonction de la concentration

Ceci pourrait s'expliquer par la structure voisine des composés F1 et F2. Le composé F3 ne diffère que par longueur de la chaîne. On peut également supposer que l'absence d'activité du composé F4 incombe à la longueur de la chaîne aminée et à la présence du N-méthyle.

A partir de ces données, nous pouvons établir un ordre parmi les composés. Le graphique représente les composés selon leur potentiel antioxydant croissant.

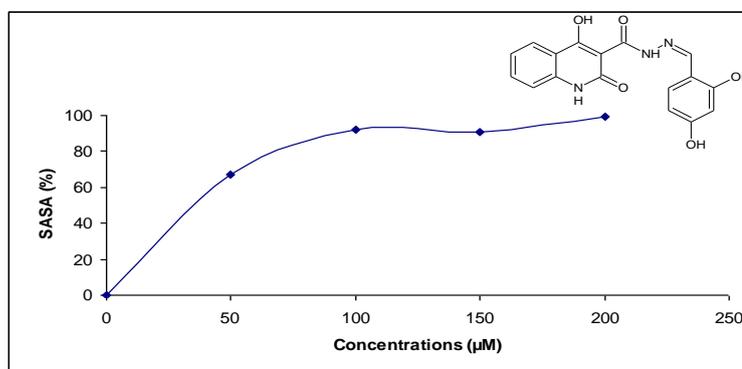


**Graphique 19 :** Représentation du pourcentage des composés pour une concentration de 100μM

### **3.4.2. Evaluation des propriétés des 1,2dihydroquinoléine-3-carbohydrazides**

De même que pour le DPPH, ce test va permettre l'évaluation antioxydante de cette classe de composés. Les deux radicaux libres mesurés sont différents. On ne sera donc pas étonné que l'ordre obtenu pour ce test soit différent de celui obtenu avec le test au DPPH.

Par exemple, le composé F7 présente un potentiel antioxydant croissant avec la concentration.



**Graphique 20 :** Activité du composé F7 en fonction de la concentration

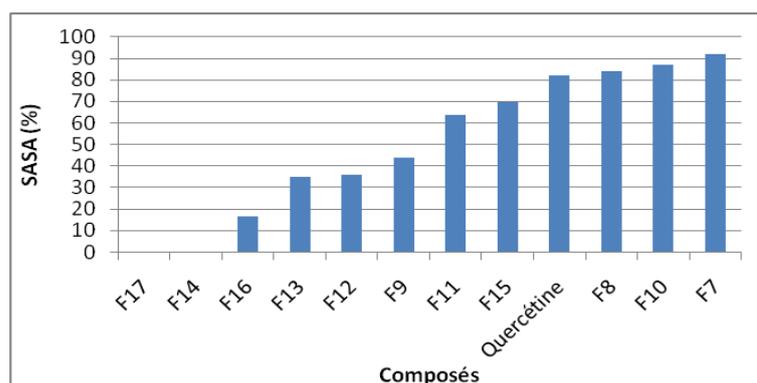
Nous avons pour chaque composé évalué le pourcentage d'inhibition de l'anion superoxyde pour des concentrations en molécules variant de 50 à 200µM. Une fois ces résultats obtenus, nous avons calculé les IC<sub>50</sub> de chacun lorsque cela était possible. Ils sont répertoriés dans le tableau qui suit. On retrouve également le pourcentage d'inhibition à 100µM.

Composés	SASA (%) à 100µM	IC50 (µM)
<b>F7</b>	92,21	<b>54</b>
<b>F8</b>	84,27	<b>71</b>
<b>F9</b>	43,88	<b>143</b>
<b>F10</b>	86,93	<b>74</b>
<b>F11</b>	63,77	<b>116</b>
<b>F12</b>	35,71	<b>&gt;200</b>
<b>F13</b>	35,13	<b>169</b>
<b>F14</b>	0	-
<b>F15</b>	69,53	<b>92</b>
<b>F16</b>	16,76	-
<b>F17a</b>	Précipitation	-
<b>Quercétine</b>	81,96	<b>29</b>

**Tableau 17 :** Inhibitions des composés F7-F17a à une concentration de 100µM et IC<sub>50</sub> en µM

Les composés F7, F8 et F10 ont présenté des pourcentages d'activité à 100µM supérieur à la quercétine. En revanche, leur IC<sub>50</sub> s'en rapproche mais reste inférieur à la référence.

Le composé F14 n'a présenté aucune activité à l'égard des radicaux O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. L'activité du composé F17 n'a pas pu être évaluée en raison d'un problème de solubilité.



**Graphique 21 :** Pourcentage d'inhibition à une concentration de 100µM

A partir de ces données nous pouvons établir un classement des composés synthétisés. Le graphique représente les composés du moins antioxydant au plus antioxydant.

Il est le suivant : F17a<F14<F16<F13<F12<F9<F11<F15<Quercétine<F8<F10<F7

### 3.5. *Autre Test*

Il existe un autre test qui permet de mesurer le piégeage des radicaux HO<sup>•</sup>. Ce test utilise la méthode d'hydroxylation de l'acide benzoïque [162]. L'acide benzoïque est hydroxylé par le radical OH<sup>•</sup>. Celui-ci est obtenu à partir de la réaction de Fenton. L'hydroxylation se fait en position C3 ou C4 du noyau aromatique. La fluorescence émise va être mesurée à 407nm avec une longueur d'onde d'excitation de 305nm. Généralement, on constate une diminution de la fluorescence lorsque le milieu est en présence d'un antioxydant.

Cependant lorsque nous avons réalisé ce test sur les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides et les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides nous n'avons pas pu évaluer le potentiel de nos molécules. En effet, la lecture de la fluorescence était faussée par la fluorescence propre de nos composés. Ceci nous empêchant d'évaluer le potentiel antioxydant de nos molécules par cette méthode.

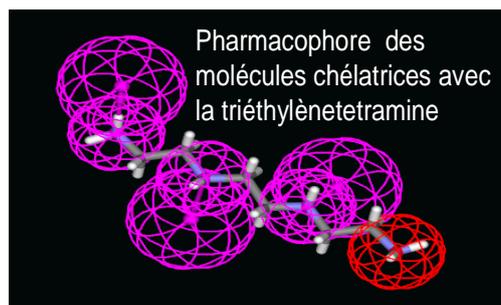
### 3.6. *Conclusion et corrélation des modèles*

Les différents tests effectués nous ont permis de mettre en évidence que les composés 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides (F1-F6) sont des composés globalement chélateur des métaux. Quelques-uns d'entre eux (F1, F2 et F3) ont révélé un potentiel antioxydant modéré.

En revanche, les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides (F7-F17a) ont montré une forte activité en tant qu'antioxydant. Toutefois, ils n'ont présenté qu'un faible potentiel chélateur de métaux. On peut supposer que c'est la présence du groupement hydroxyle en position 4 de la quinoléine et du carbonyle de l'amide qui pourraient induire une activité chélatrice des métaux.

Afin de confirmer les modèles établis et évaluer la correspondance entre la théorie et l'expérience, nous avons calculé la corrélation des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides avec le pharmacophore chélatant. La corrélation des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides sera faite avec le modèle antioxydant.

On va ainsi comparer les résultats de la modélisation avec le classement établis à partir de ces tests physicochimiques.



**Figure 21:** pharmacophore chélatant donné par le logiciel discovery studio 2.5.

A partir de ce modèle, nous avons calculé les corrélations avec le pharmacophore. Elles sont classées de la meilleure corrélation (F6) à la plus faible (F3).

Composés	Structures Chélatrices	Corrélation avec le pharmacophore
F6		3.752/4
F5		3.677/4
F4		3.192/4
F3		3.065/4

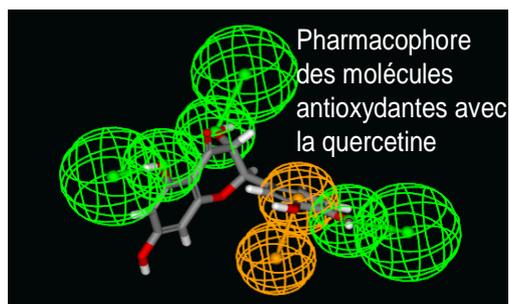
**Tableau 18 :** Corrélations des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides avec le pharmacophore chélatant

En comparant ces résultats avec ceux que nous avons obtenus pour le test de la ferrozine nous allons pouvoir confirmer le modèle.

Le modèle nous donne l'ordre suivant : F6>F5>F4>F3

Le test nous donne : F5>F6>F4>F3

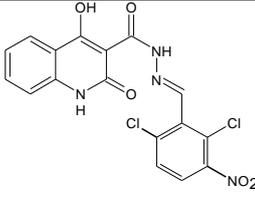
L'expérience confirme le modèle. L'ordre varie au niveau des composés F5-F6 et F4-F3. Ceux-ci ne diffèrent que par la présence ou non de la N-méthylation.



**Figure 20 :** pharmacophore antioxydant donné par le logiciel discovery studio 2.5.

A partir du modèle établi nous avons pu calculer la corrélation de nos composés. Ces résultats sont donnés dans le tableau qui suit. Elles sont classées de la meilleure corrélation (F11) à la plus faible (F15).

Composés	Structures	Corrélation avec le pharmacophore	Composés	Structures	Corrélation avec le pharmacophore
F11		3.222/4	F9		2.984/4
F7		3.169/4	F13		2.881/4
F8		3.131/4	F16		2.761/4
F17a		3.106/4	F14		2.729/4
F12		3.097/4			2.664/4

F15		2.585/4
-----	---	---------

**Tableau 19 :** Corrélations des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides avec le pharmacophore antioxydant

L'ordre théorique obtenu à partir de ce modèle est le suivant :

F11>F7>F8>F17a>F12>F9>F13>F16>F14>F10>F15

Lorsque l'on s'attarde sur la structure des composés, on peut répartir ces résultats en deux groupes. Les composés présentant les substituants hydroxyles sur le noyau aromatique correspondent aux meilleures corrélations avec le modèle. On constate également que les dihydroxylés donnent de bon résultats. Cependant, une exception est observée avec le composé F11.

De plus, on constate que la présence du N-méthyle diminue la corrélation avec le modèle. Toutefois le composé F16 déroge à la règle.

Le test du DPPH donne l'ordre qui suit :

F16>F13>F14>F17a>F15>F12>F8>F10>F11>F9>F7

Lorsque l'on compare les deux ordres, on constate qu'ils sont peu cohérents. Le test du DPPH ne semble pas confirmer le modèle théorique qui a été établi. L'ordre semble être inversé. Les composés possédant les substituants hydroxyles présentent une faible activité vis-à-vis du radical DPPH. Seul le composé F17a se démarque en présentant une activité modérée. Il est à supposer que la présence du chlore intervienne au niveau de l'activité.

Le test de l'anion superoxyde donne : F7>F10>F8>F15>F11>F9>F12>F13>F16>F14>F17a

La comparaison avec le modèle théorique ne correspond pas entièrement. On retrouve cependant quelques similarités. Notamment les composés F7 et F8 se sont montrés de bons

antioxydants. De plus, les composés F9, F12, F13, F16 et F14 se retrouvent dans le même ordre et avec juste une inversion pour les composés F9 et F12.

Ainsi le classement établi grâce au test de l'anion superoxyde se rapproche le plus de celui donné par le pharmacophore.

De manière générale on ne peut pas donner de réponses univoques par rapport aux modèles. C'est-à-dire que les composés corrélant avec le pharmacophore antioxydant ne présentent pas uniquement des propriétés antioxydantes et réciproquement pour les molécules corrélant avec le pharmacophore chélateur des métaux. Les pharmacophores établis restent des modèles théoriques permettant de donner une bonne tendance sur l'activité des molécules, mais ne permettent pas de quantifier cette activité.

Néanmoins, les pharmacophores peuvent donner une bonne indication qualitative sur la nature de l'activité envisagée.

### III. Les cholinestérases

Les enzymes cholinestérasiques sont une cible avérée dans la maladie d'Alzheimer. Divers dérivés quinoléiques présentés dans le chapitre II ont montré une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (cf :tacrine, huperzine A). Nous avons donc réalisé l'évaluation biologique de nos composés vis-à-vis des cholinestérases.

#### 1. Les structures

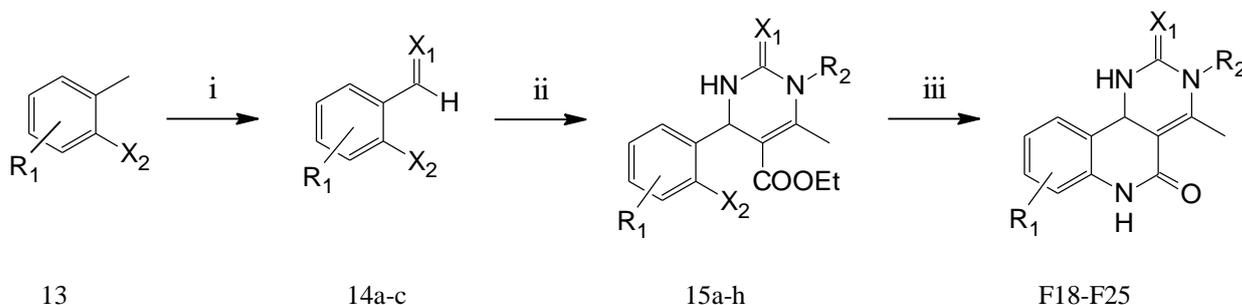
Les composés que nous avons tout d'abord évalué comme inhibiteur des cholinestérases sont les dihydropyrimidoquinoléines issues de la réaction de Biginelli, ainsi que les pyrazoloquinoléines. La synthèse de ces composés est présentée dans la partie suivante.

Dans l'objectif d'obtenir des composés multifactoriels, c'est-à-dire des composés possédant plusieurs activités biologiques, nous avons également évalué le potentiel inhibiteur des cholinestérases pour nos premiers composés synthétisés à partir des pharmacophores établis dans le domaine des antioxydants et des chélateurs de métaux.

#### 1.1. Dihydropyrimidoquinoléines

##### 1.1.1. Les composés

La synthèse des dihydropyrimidoquinoléines est obtenue en deux étapes lorsque le dérivé aldéhydique est commercial. La réaction se fait en trois étapes pour les aldéhydes non-commerciaux selon le schéma réactionnel suivant :



**Schéma 18 :** (i)  $\text{CrO}_3$ , anhydride acétique,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; (ii)  $\text{H}_2\text{NCONR}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{AcOH}$ , acétoacétate d'éthyle; (iii)  $\text{NH}_3$  28%,  $250^\circ\text{C}$ , 10bars.  $\text{X}_1 = \text{O}, \text{S}$ ,  $\text{X}_2 = \text{Cl}, \text{Br}$ ,  $\text{R}^1 = \text{Cl}, \text{NO}_2$ ,  $\text{R}^2 = \text{Me}, \text{Et}$ .

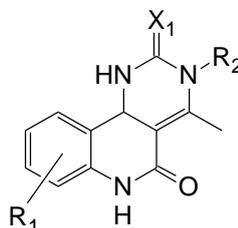
Le schéma réactionnel s'appuie sur la procédure mise au point par le laboratoire [47]. Le 2-bromo-3-nitrobenzaldéhyde est obtenu par oxydation du 2-bromo-3-nitrotoluène. Le chrome (VI) est un oxydant couramment employé dans les années 70. Il fut utilisé dans différentes combinaisons de réactifs. Nous avons ici utilisé le réactif de Thiele. La combinaison est la suivante  $\text{CrO}_3/\text{anhydride acétique}/\text{H}_2\text{SO}_4$ .

L'étape qui suit constitue l'étape clé de la synthèse, la réaction de Biginelli. Cette réaction multi-composante permettant la formation du squelette dihydropyrimidinique. La réaction est réalisée en milieu acide en présence de dérivés uréiques ou thiouréiques.

Les composés sont obtenus avec un rendement global variant entre 30 et 60%. La réaction impliquant les urées donnent de meilleurs résultats en comparaison aux thiourées. On a pu également observer une baisse de réactivité en présence du composé nitré.

La dernière étape correspond à une cyclisation afin d'obtenir le noyau quinoléique. Cette réaction est réalisée avec de l'ammoniaque 28% sous pression.

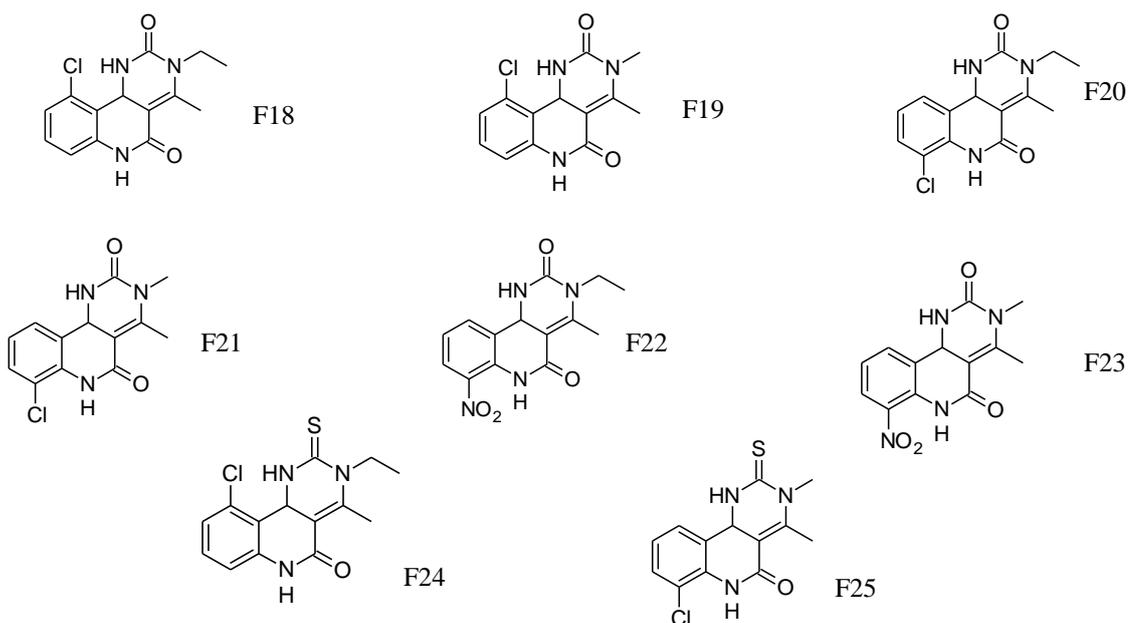
Ce schéma de synthèse conduit aux composés F18-F25 répertoriés dans le tableau suivant avec les rendements de la dernière étape :



Composés	X <sub>1</sub>	R1	R2	Rendement (%)
F18	O	10-Cl	Et	6
F19	O	10-Cl	Me	13
F20	O	7-Cl	Et	21
F21	O	7-Cl	Me	22
F22	O	7-NO <sub>2</sub>	Et	15
F23	O	7-NO <sub>2</sub>	Me	24
F24	S	10-Cl	Et	50
F25	S	7-Cl	Me	15

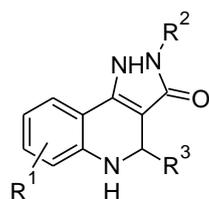
**Tableau 20 :** Substituants et rendements des composés F18-F25

Ce schéma réactionnel nous a permis d'obtenir les composés suivants :

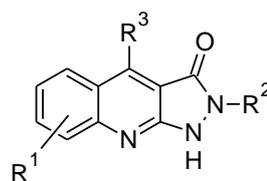


### 1.2. *Pyrazoloquinolinones*

La synthèse des pyrazoloquinolinones peut se découper en deux sous-séries. On a dans un premier temps les composés angulaires de type I et les composés linéaires de type II.



Type I

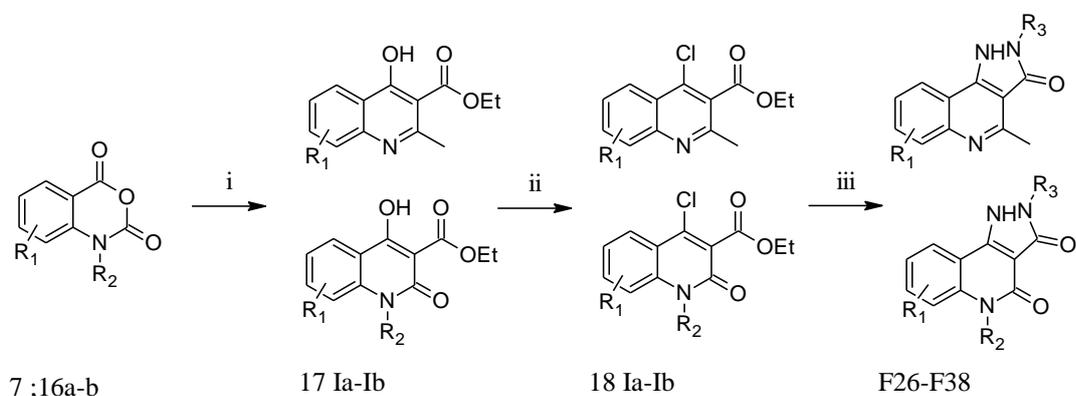


Type II

**1.2.1. Les composés angulaires**

*1.2.1.1. Le schéma de synthèse*

La synthèse de ces composés se fait en trois étapes principales à partir de divers anhydrides isatoïques.



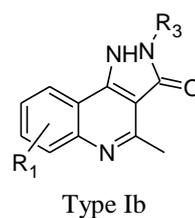
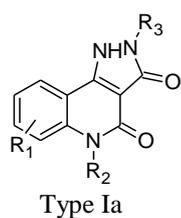
**Schéma 19 :** (i) malonate de diéthyle ou acétoacétate d'éthyle NaH/DMF/85°C 5h ou NaH/DMA/140°C 15min ou NaOtBu/DMA/95°C 1h ; (ii) POCl<sub>3</sub> reflux ; (iii) H<sub>2</sub>NNHR<sub>4</sub>/Ethoxyéthanol/reflux. R<sub>1</sub> = H, NO<sub>2</sub>, Cl ; R<sub>2</sub> = H, CH<sub>3</sub>, Bn ; R<sub>3</sub> = H, CH<sub>3</sub>, Ph.

La première étape est identique à celle utilisée dans le schéma réactionnel des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides. Cette première étape permet l'obtention du noyau quinoléique. C'est une condensation avec le malonate de diéthyle ou l'acétoacétate d'éthyle en milieu basique conduisant au composé 17 de type Ia et Ib.

La deuxième étape est une chloration du groupement hydroxyle en position 4 de la quinoléine. Cette réaction est réalisée en absence de solvant dans le POCl<sub>3</sub> à reflux. Elle est une étape importante pour la cyclisation du dernier cycle.

La dernière étape correspond à la formation du troisième cycle. La réaction est réalisée en présence de l'hydrazine ou d'un de ses dérivés selon la méthode décrite antérieurement par le laboratoire [153].

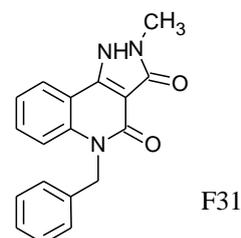
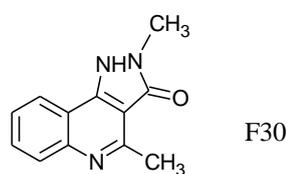
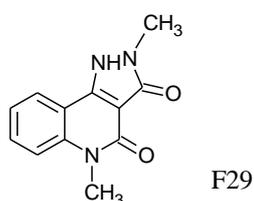
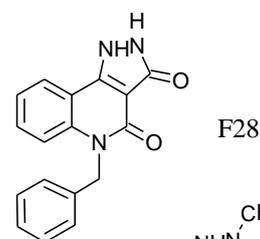
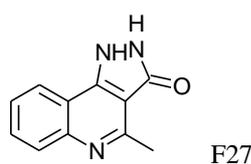
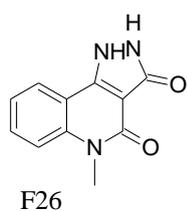
Nous obtenons ainsi les composés F26-F38 de type Ia et Ib

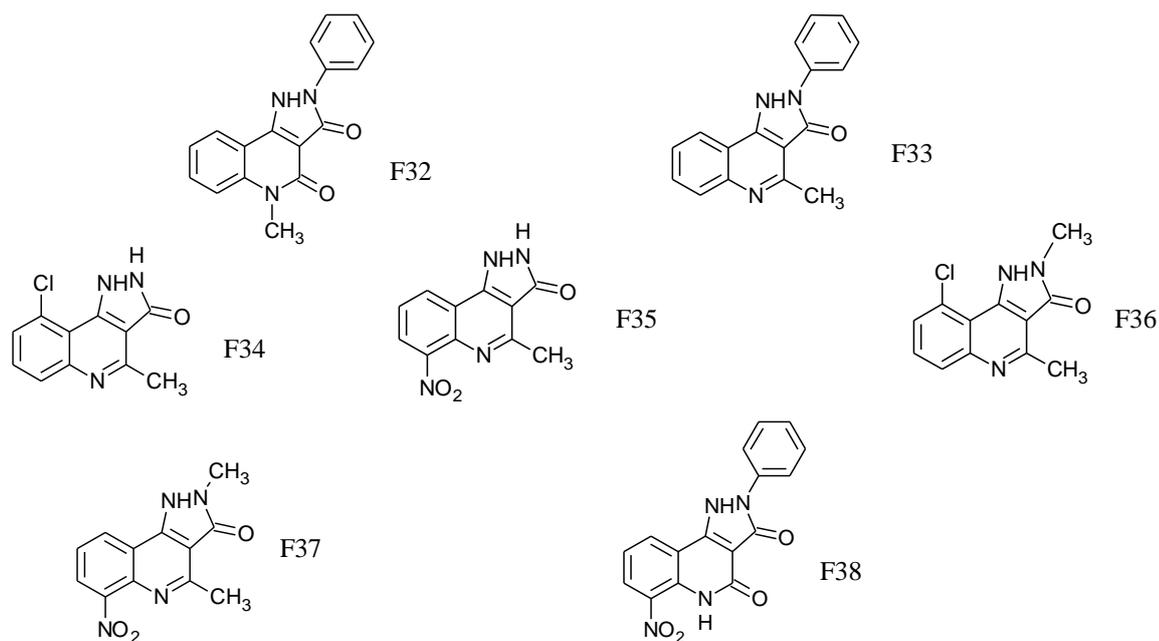


Composés	Type	R1	R2	R3	Rendement (%)
F26	Ia	H	CH <sub>3</sub>	H	66
F27	Ib	H	-	H	49
F28	Ia	H	Bn	H	87
F29	Ia	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	77
F30	Ib	H	-	CH <sub>3</sub>	82
F31	Ia	H	Bn	CH <sub>3</sub>	46
F32	Ia	H	CH <sub>3</sub>	Ph	18
F33	Ib	H	-	Ph	74
F34	Ib	10-Cl	-	H	15
F35	Ib	7-NO <sub>2</sub>	-	H	91
F36	Ib	10-Cl	-	CH <sub>3</sub>	40
F37	Ib	7-NO <sub>2</sub>	-	CH <sub>3</sub>	42
F38	Ia	7-NO <sub>2</sub>	H	Ph	26

**Tableau 21 :** Substituants et rendements de la dernière étape des composés F26-F38

Ainsi à partir des différents anhydrides isatoïques et l'utilisation du malonate de diéthyle ou de l'acétoacétate d'éthyle, on obtient les composés suivants :



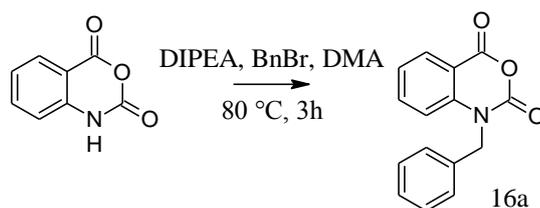


1.2.1.2.

Les anhydrides isatoïques

Les composés F28, F31 et F34-F38 sont obtenus à partir d'anhydrides isatoïques substitués et non-commerciaux leur synthèse est présentée dans ce paragraphe.

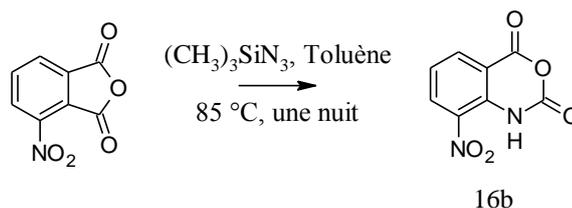
➤ N-benzyl-anhydride isatoïque



**Schéma 20 :** synthèse du N-benzyl-anhydride isatoïque à partir de l'anhydride isatoïque

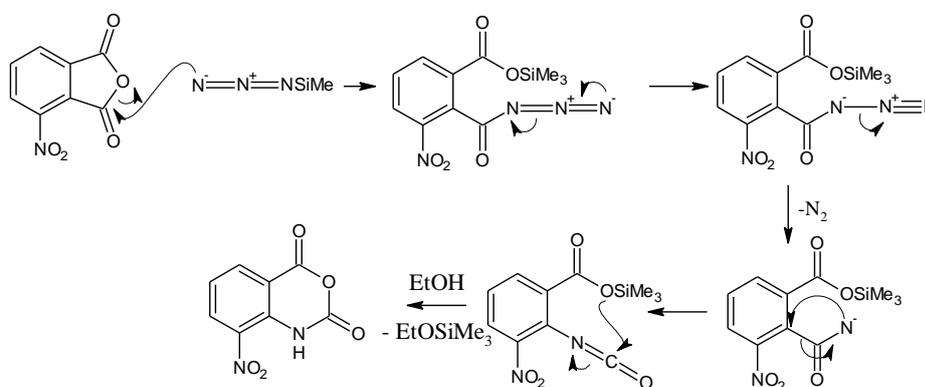
Le N-benzyl-anhydride isatoïque est obtenu à partir de l'anhydride isatoïque. Il est synthétisé en présence du bromure de benzyle et du diisopropyléthylamine selon la méthode décrite par Beutner et al [109].

➤ 8-nitro-anhydride isatoïque



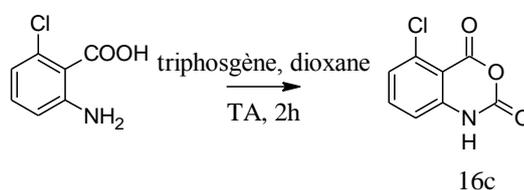
**Schéma 21 :** synthèse du 8-nitro-anhydride isatoïque à partir de l'anhydride 3-nitrophallique

Le 8-nitro-anhydride isatoïque est obtenu à partir de l'anhydride 3-nitrophallique. Il est synthétisé en présence de l'azido-triméthylsilane selon la méthode décrite par Pelletier et al [163]. Celle-ci est une variation du réarrangement de Curtius [164].



**Schéma 22 :** Réarrangement de Curtius

➤ 5-chloro-anhydride isatoïque

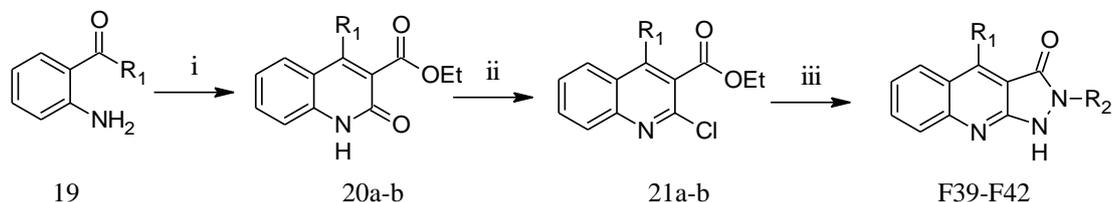


**Schéma 23 :** synthèse du 5-chloro-anhydride isatoïque à partir de l'acide 5-chloro-anthranilique

La synthèse du 5-chloro-anhydride isatoïque a été décrite dans la partie IV.1.1.2. Elle est réalisée à partir de l'acide 6-chloro anthranilique en présence du triphosgène.

**1.2.2. Les composés linéaires**

La synthèse de ces composés se fait en trois étapes à partir de l'acétophénone ou la benzophénone.



**Schéma 24 :** (i)  $CH_2(CO_2Et)_2$ , DBU,  $120^\circ C$  ; (ii)  $POCl_3$  reflux ; (iii)  $H_2NNHR_2$ /Ethoxyéthanol/reflux.  
 $R_1 = CH_3, Ph$  ;  $R_2 = H, CH_3$ .

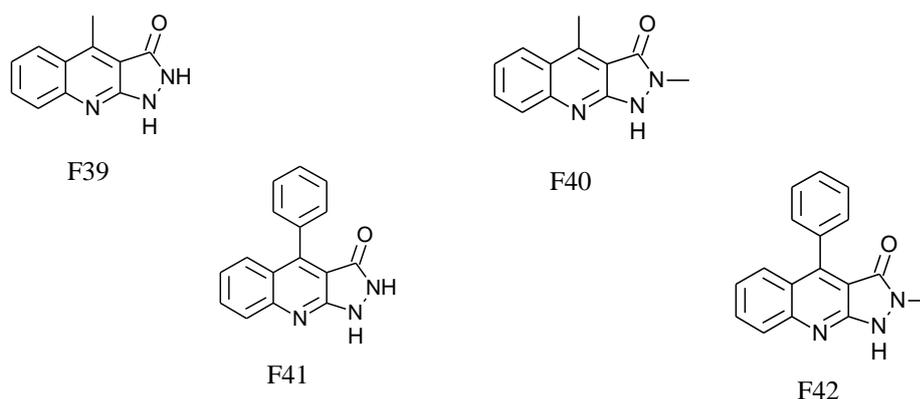
La première étape permet la formation de la quinoléine. La réaction est réalisée en présence du malonate de diéthyle à partir de l'acétophénone ou de la benzophénone.

Les deux dernières étapes sont identiques à la première séquence présentée. Dans un premier temps, on effectue la chloration en position 2 de la quinoléine. Cette étape est réalisable grâce à la forme tautomère lactime de la fonction lactame. La dernière étape est la formation du cycle à pyrazole par addition de l'hydrazine.

Cette séquence de réaction conduit à l'obtention des composés suivants :

Composés	R1	R2	Rendement (%)
F39	CH <sub>3</sub>	H	48
F40	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	56
F41	Ph	H	53
F42	Ph	CH <sub>3</sub>	42

**Tableau 22 :** Substituants et rendements de la dernière étape des composés F39-F42

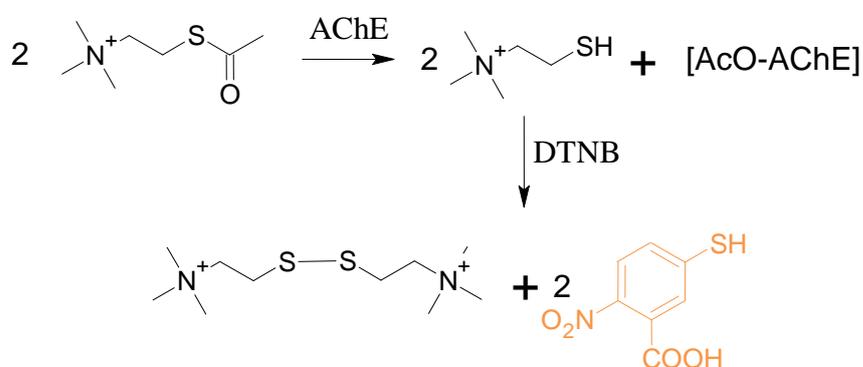


## 2. Les tests biologiques

Ces expérimentations ont été menées au sein de l'Institut Teófilo Hernando, et du département de pharmacologie et thérapeutique de la faculté de médecine de Madrid. Ceci en collaboration avec le laboratoire des radicaux libres et de la chimie computationnelle (IQOG, CSIC) à Madrid.

### 2.1. Acétylcholinestérase

La méthode est basée sur le test d'Ellman [165] et permet de déterminer le pourcentage d'inhibition d'un composé sur l'enzyme acétylcholinestérase.

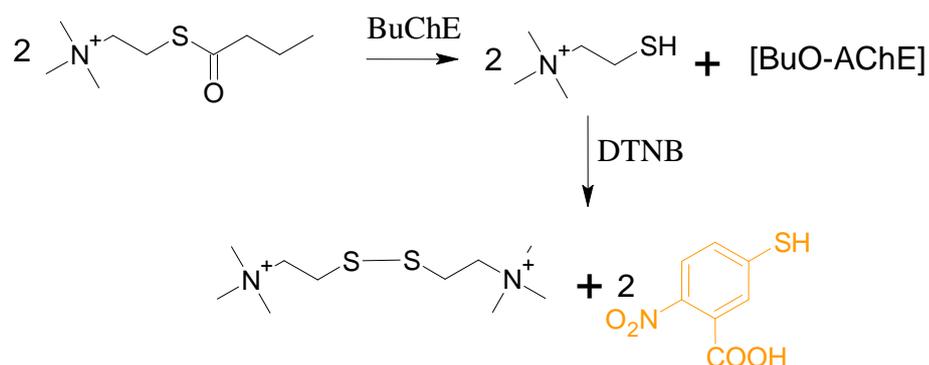


**Schéma 25 :** Réaction du test d'Ellman avec l'AChE

La révélation de l'activité enzymatique utilise un substrat artificiel, l'acétylthiocholine dont l'hydrolyse conduit à la formation de thiocholine. Cette dernière forme un dérivé coloré avec le DTNB (Schéma 25). La mesure est réalisée par un dosage photométrique à partir du thiol libéré. L'acétylcholinestérase qui sera utilisée pour ce test proviendra de l'anguille électrique. Elle s'apparente à celle humaine mais son coût de revient est moindre.

### 2.2. Butyrylcholinestérase

La réaction est la même que celle utilisée pour l'acétylcholinestérase. La seule différence se fait au niveau du substrat et de l'enzyme. On utilise dans ce cas la butyrylthiocholine. L'enzyme utilisée pour ce test sera issue du cheval. Ceci pour les mêmes raisons citées précédemment.



**Schéma 26 :** Réaction du test d'Ellman avec la BuChE

### 2.3. Les résultats

#### 2.3.1. Evaluation biologique des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides

Le tableau ci-dessous donne les pourcentages d'inhibition de l'acétyl et de la butyryl cholinestérase aux concentrations de 10 et 1  $\mu\text{M}$ . Les  $\text{IC}_{50}$  ont été déterminés pour les composés ayant présenté 50% d'inhibition de l'enzyme pour des concentrations comprises entre 0,3 et 30  $\mu\text{M}$ . Afin de palier au problème de précipitation, l'albumine bovine est ajoutée pour les concentrations de 10 et 30  $\mu\text{M}$ . La tacrine est prise comme référence.

NB : Les molécules n'ont pas été testées pour des concentrations plus élevées pour des problèmes de solubilité.

Composés	AChE			BuChE		
	10 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	10 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
<b>F1</b>	7 $\pm$ 2%	0 $\pm$ 12 %	-	0 $\pm$ 16 %	- 30 $\pm$ 6 %	-
<b>F2</b>	22 $\pm$ 12 %	0 $\pm$ 20 %	>30	0 $\pm$ 14 %	10 $\pm$ 15 %	-
<b>F3</b>	0 $\pm$ 17 %	0 $\pm$ 12 %	-	10 $\pm$ 16 %	13 $\pm$ 8 %	-
<b>F4</b>	Non soluble	Non soluble	-	Non soluble	Non soluble	-
<b>F5</b>	22 %	-	<b>13 <math>\pm</math> 3</b>	26 $\pm$ 7 %	-	<b>19 <math>\pm</math> 3</b>
<b>F6</b>	38 $\pm$ 8 % avec BSA30	19 $\pm$ 7 % avec BSA10	-	66 $\pm$ 3 % avec BSA10	30 $\pm$ 7 % Avec BSA10	<b>5.2 <math>\pm</math> 0.3</b>
<b>Tacrine</b>	-	-	<b>0,14</b>	-	-	<b>0,010</b>

**Tableau 23 :** Récapitulatif du pourcentage d'inhibition et  $\text{IC}_{50}$  des composés F1-F6. Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'erreur standard d'au moins trois essais.

Seuls les composés F5 et F6 se sont révélés posséder une activité. Le composé F5 a montré une activité modérée pour l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. En revanche, le composé F6 a présenté une selectivité marquée pour la butyrylcholinestérase.

### 2.3.2. Evaluation biologique des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides

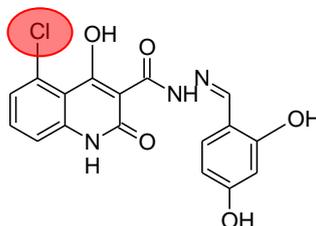
Nous avons également réalisé le test d'inhibition des cholinestérases. Le tableau représente le pourcentage d'inhibition à 10 et 1 $\mu$ M. Lorsqu'il a été possible nous avons évalué l'IC<sub>50</sub> des composés. Pour les mêmes raisons que précédemment (problème de précipitation), les molécules n'ont pas été testées pour des concentrations supérieures à 30 $\mu$ M. L'albumine bovine est également utilisée pour les concentrations de 10 et 30 $\mu$ M. La tacrine est prise comme référence.

Composés	AChE			BuChE		
	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>F7</b>	1 %	6 $\pm$ 5 %	-	13 $\pm$ 15 %	0 $\pm$ 2 %	-
<b>F8</b>	-30 $\pm$ 12 % (précipitation)	0 $\pm$ 9 %	-	1 $\pm$ 3 % avec BSA30	3 $\pm$ 2 % avec BSA30	-
<b>F9</b>	0 $\pm$ 9 % (précipitation)	18 % avec BSA10	-	13 $\pm$ 6 % avec BSA30	3 $\pm$ 6 % avec BSA30	-
<b>F10</b>	Non soluble	0 $\pm$ 10 %	-	-10 $\pm$ 5 %	12 $\pm$ 10 %	-
<b>F11</b>	-10 $\pm$ 16 % (précipitation)	0 $\pm$ 10 %	-	21 $\pm$ 10 % avec BSA30	0 $\pm$ 3 % avec BSA30	-
<b>F12</b>	Non soluble	Non soluble	-	Non soluble	Non soluble	-
<b>F13</b>	Non soluble	16 $\pm$ 2 %	-	Non soluble	0 $\pm$ 20 %	-
<b>F14</b>	Non soluble	Non soluble	-	Non soluble	Non soluble	-
<b>F15</b>	Non soluble	0 $\pm$ 14 %	-	Non soluble	16 $\pm$ 16 %	-
<b>F16</b>	Non soluble	0 $\pm$ 10 %	-	Non soluble	-10 $\pm$ 8 %	-
<b>F17a</b>	Précipitation	21 $\pm$ 8 %	<b>12 <math>\pm</math> 1</b>	0 $\pm$ 5 % avec BSA30	5 $\pm$ 3 % avec BSA30	-
<b>Tacrine</b>	-	-	<b>0,14</b>	-	-	<b>0,010</b>

**Tableau 24 :** Récapitulatif du pourcentage d'inhibition et IC<sub>50</sub> des composés F7-F17a. Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'erreur standard d'au moins trois essais.

Seul le composé F17a a montré une activité intéressante. Celui-ci présente un IC<sub>50</sub>=12 $\mu$ M et une sélectivité exclusive pour l'acétylcholinestérase.

Le composé F17a ne diffère de son analogue F7 que par la présence du chlore en position 5. Une analyse par modélisation moléculaire faisant appel au docking permettra de mettre en évidence les interactions potentielles avec le récepteur.



### 2.3.3. Evaluation biologique des dihydropyrimidoquinoléines

Les dihydropyrimidoquinoléines ont été évaluées comme inhibiteurs des cholinestérases. Ces tests biologiques ont été réalisés dans les mêmes conditions que précédemment. La tacrine est prise comme référence.

Les résultats pour 10, 1  $\mu$ M et les IC<sub>50</sub> sont répertoriés dans le tableau qui suit.

Composés	AChE			BuChE		
	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>F18</b>	20 $\pm$ 18	8 $\pm$ 1 %	>30	16 $\pm$ 7 %	2 $\pm$ 1 %	>30
<b>F19</b>	7.3 $\pm$ 0.5 %	0 $\pm$ 12 %	-	24 $\pm$ 9 %	12 $\pm$ 8 %	>30
<b>F20</b>	0 $\pm$ 15 %	5 $\pm$ 6 %	-	0 $\pm$ 9 %	0 $\pm$ 12 %	-
<b>F21</b>	24 $\pm$ 1 %	0 $\pm$ 10 %	> 30	11 $\pm$ 8 %	0 $\pm$ 4 %	>30
<b>F22</b>	14 %	-	<b>8 <math>\pm</math> 1</b>	0 $\pm$ 18 %	15 $\pm$ 13 %	-
<b>F23</b>	21 %	-	<b>6 <math>\pm</math> 1</b>	22 $\pm$ 9 %	0 $\pm$ 2 %	>30
<b>F24</b>	0 $\pm$ 9 %	0 $\pm$ 4 %	-	-19 $\pm$ 16 %	6 $\pm$ 6 %	-
<b>F25</b>	0 $\pm$ 10 %	20 $\pm$ 9 %	-	17 $\pm$ 9 %	1 $\pm$ 2 %	>30
<b>Tacrine</b>	-	-	<b>0,14</b>	-	-	<b>0,010</b>

**Tableau 25 :** Récapitulatif du pourcentage d'inhibition et IC<sub>50</sub> des composés F18-F25. Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'erreur standard d'au moins trois essais.

Les composés F22 et F23 ont présenté une activité sélective vis-à-vis de l'acétylcholinestérase. Ils se sont tous les deux révélés comme de bons inhibiteurs avec des IC<sub>50</sub> respectifs de 8 et 6  $\mu$ M. Aucun de ces composés n'a présenté de meilleure activité que la tacrine. Leur activité reste cependant prometteuse pour la suite.

Le docking du composé F22 a été réalisé afin de mettre en évidence les interactions présentes avec l'enzyme. Ceci permettra d'envisager des pharmacomodulations et obtenir des composés encore plus actifs.

### **2.3.4. Evaluation biologique des pyrazoloquinolinones**

Le tableau donne les pourcentages d'inhibition de l'acétylcholinestérase aux concentrations de 1 et 10 $\mu$ M. Peu de pourcentages sont donnés à 1 $\mu$ M en raison d'une faible ou absence d'inhibition à 10 $\mu$ M. Les IC<sub>50</sub> sont donnés pour les composés ayant présenté 50% d'inhibition de l'enzyme pour des concentrations comprises entre 0,3 $\mu$ M et 30 $\mu$ M.

NB : Les expériences sont réalisées dans les mêmes conditions que les essais décrits précédemment.

Composés	AChE		
	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>F26</b>	-	-	-
<b>F27</b>	0 $\pm$ 17%	39 $\pm$ 7%	>30
<b>F28</b>	-	9 $\pm$ 6%	-
<b>F29</b>	-	-	-
<b>F30</b>	-	-	-
<b>F31</b>	-	-	-
<b>F32</b>	-	-	-
<b>F33</b>	-	21 $\pm$ 19%	>30
<b>F34</b>	10 $\pm$ 5%	45 $\pm$ 2%	<b>7<math>\pm</math>4</b>
<b>F35</b>	51 $\pm$ 9%	80 $\pm$ 11%	<b>1.04<math>\pm</math>0.25</b>
<b>F36</b>	-	-	-
<b>F37</b>	21 $\pm$ 15%	34 $\pm$ 14%	>30
<b>F38</b>	-	-	-
<b>F39</b>	-	16 $\pm$ 4%	>30
<b>F40</b>	-	-	-
<b>F41</b>	-	-	-
<b>F42</b>	-	-	-
<b>Tacrine</b>	-	-	<b>0,14</b>

**Tableau 26 :** Récapitulatif du pourcentage d'inhibition et IC<sub>50</sub> des composés F26-F42. Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'erreur standard d'au moins trois essais.

Deux composés ont montré une activité. Les composés F34 et F35 ont donné des IC<sub>50</sub> respectifs de 7 et 1 $\mu$ M. Les composés ne se sont pas révélés meilleurs inhibiteurs que la tacrine. La valeur du composé F34 est très intéressante mais son potentiel reste modéré par la haute valeur de l'erreur d'incertitude. Ces résultats restent cependant intéressants et prometteurs.

### 3. Modélisation moléculaire

#### *3.1. Généralités*

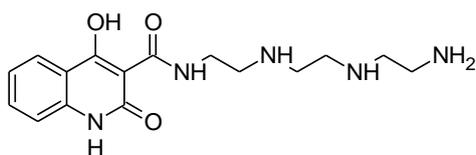
Les origines de la modélisation moléculaire moderne remontent au début du XX<sup>ème</sup> siècle. La première représentation de la structure moléculaire réalisée avec succès est étroitement liée à l'évolution de la physique nucléaire. La complexité des structures cristallines évoluant rapidement, la représentation en 2D ne suffit plus. L'utilisation de kit moléculaire est la seule alternative. C'est en 1970 qu'est décrit pour la première fois une structure en 3D sur ordinateur. De nos jours la modélisation moléculaire est indissociable de l'ordinateur.

La conception de médicament est un processus itératif qui commence quand le chimiste identifie un composé bioactif et finit quand le profil d'activité et la synthèse sont optimisés. Pendant les dix à vingt ans passés, les scientifiques ont utilisé les modèles informatiques de nouvelles entités chimiques pour aider définir des profils d'activité, la géométrie et des réactivités (approche « pharmacophore based design »).

Un des principes de base de chimie thérapeutique est que l'activité biologique dépend du placement tridimensionnel de groupes fonctionnels au niveau du site actif (docking) [166].

Le docking est une méthode qui va permettre de prévoir la position la plus favorable qu'une molécule va se fixer sur un site actif. De ce fait, il est un outil indispensable dans la prédiction de l'affinité et de l'activité de nouveaux composés.

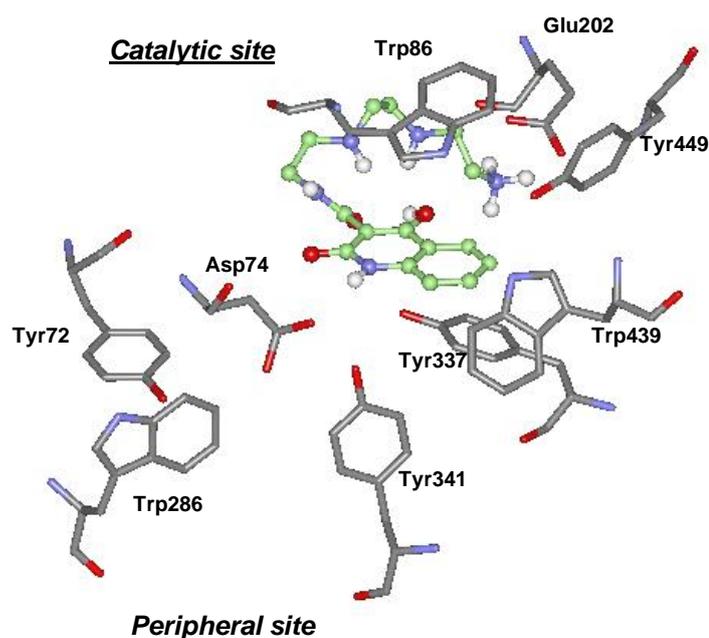
Les études de docking ont été réalisées avec le programme AutoDock 4.0. Nos objectifs ont été de déterminer les sites de liaisons et la conformation de nos molécules, pour cela, deux régions de la protéine ont été analysées, le centre catalytique (CC) et le site périphérique anionique (PAS), tous deux reliés par un tunnel appelé la gorge.

3.2. *1,2-dihydroquinoléine-carboxamides*

L'étude du docking fournit une large variété de solutions. Le ligand est placé à la fois dans le centre catalytique (CC) et le site périphérique anionique (PAS). Dans chaque cas, l'amine terminale (protoné à pH physiologique) forme une liaison hydrogène avec la chaîne latérale du Glu 202.

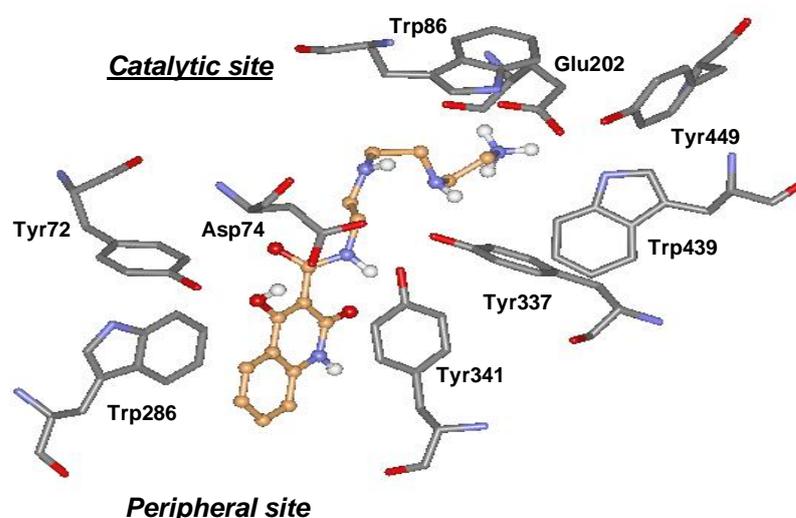
De plus:

**Au CC:** le noyau aromatique forme des interactions  $\pi$  entre l'indole du Trp86 et le phénol du Tyr 337. Le groupement NH de la quinoléine forme une liaison hydrogène avec Asp74. Cette interaction n'est pas possible avec le groupement N-méthyle ce qui induit une déstabilisation du complexe due à la forte gêne stérique, ce qui explique la baisse d'activité. Enfin, des interactions hydrophobes sont observées avec Trp439. La flexibilité de la chaîne du ligand permet plusieurs conformations, où d'autres interactions peuvent être établies.

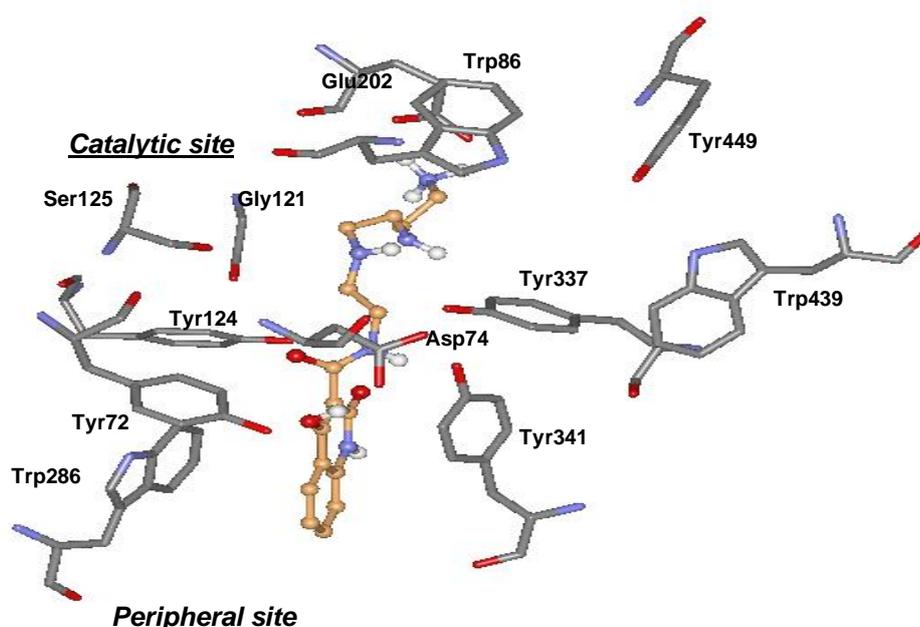


**Figure 24 :** Le composé F5 dans le CC

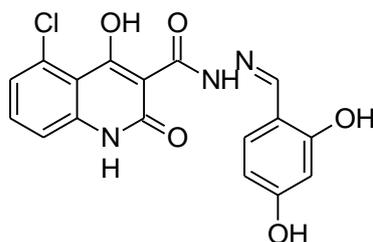
**Au PAS:** le ligand peut également se placer au PAS par une interaction  $\pi$  avec Trp286 et Tyr341. Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec Asp74 and Tyr72. Le carbonyle de l'amide acyclique peut également interagir avec Tyr124 par liaison hydrogène (voir figure suivante). La longue chaîne permet une interaction avec le Glu 202, la flexibilité de la chaîne permet des liaisons hydrogènes en plus avec les résidus au niveau de la gorge connectant le CC et le PAS tel que, Tyr124, Tyr341, Tyr337, Ser125, Gly121. Les ligands avec des chaînes plus courtes, ne sont pas capable de former l'interaction principale avec Glu202 et d'établir les interactions avec les résidus de la gorge.



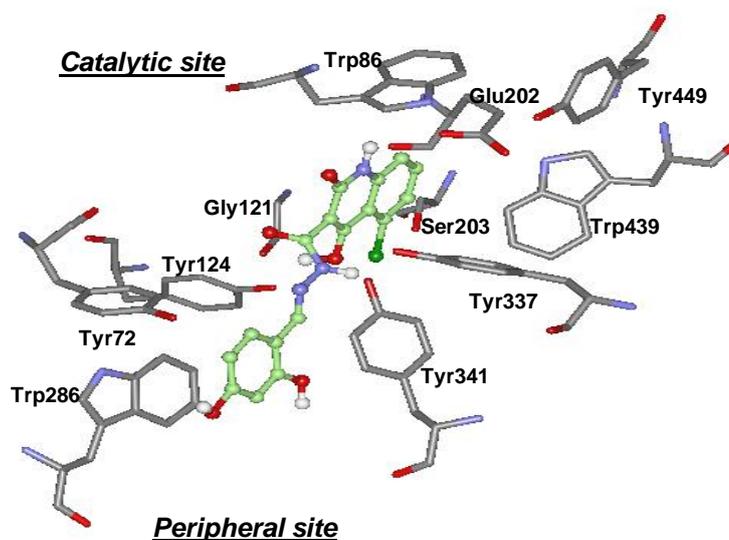
**Figure 25 :** Le composé F5 dans le PAS



**Figure 26 :** Le composé F5 dans le PAS vu sous un autre angle

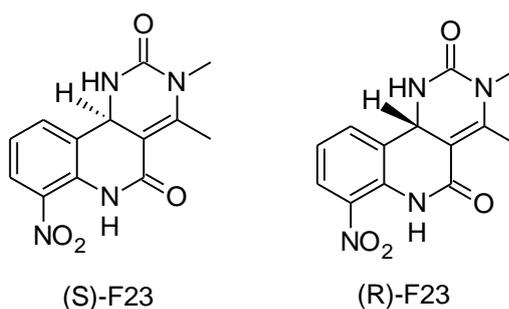
3.3. *1,2-dihydroquinoléine-carbohydrazides*

Bien qu'il y ait quelques différences conformationnelles, toutes les solutions placent le motif resorcinol au niveau du PAS, piégé entre Trp286 et Tyr341. La quinoléine est perpendiculaire à la chaîne du noyau aromatique du Trp86, ce qui écarte l'interaction  $\pi$  attendue. Cependant, l'indole établi des forces de van der Waals avec le proton de l'amide alors que l'hydroxyle est lié à Tyr124 et Gly121 par liaison hydrogène, ce qui stabilise le complexe. L'acétohydrazide forme une liaison hydrogène avec Tyr337.



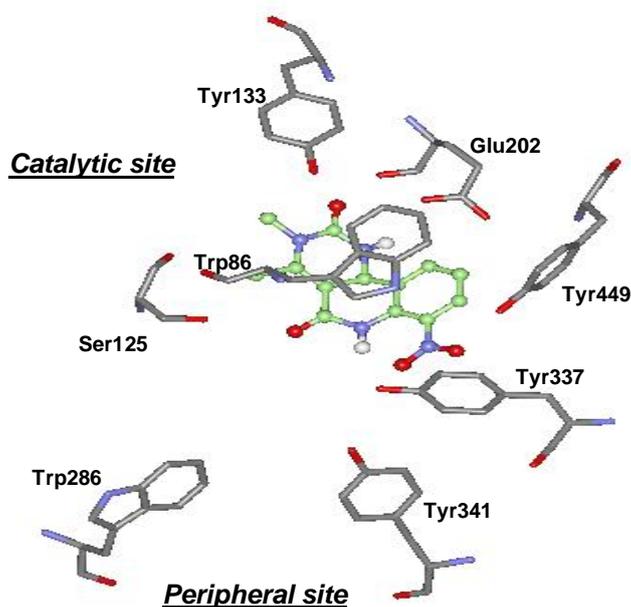
**Figure 27 :** Composé F17a dans le CC

Enfin, on peut observer la formation d'une liaison hydrogène entre le chlore du ligand et l'hydroxyle de la Ser 203. L'absence d'activité pour le composé F7 peut s'expliquer par l'absence du chlore et donc de l'interaction avec Ser203.

3.4. *Dihydropyrimido quinoléines*

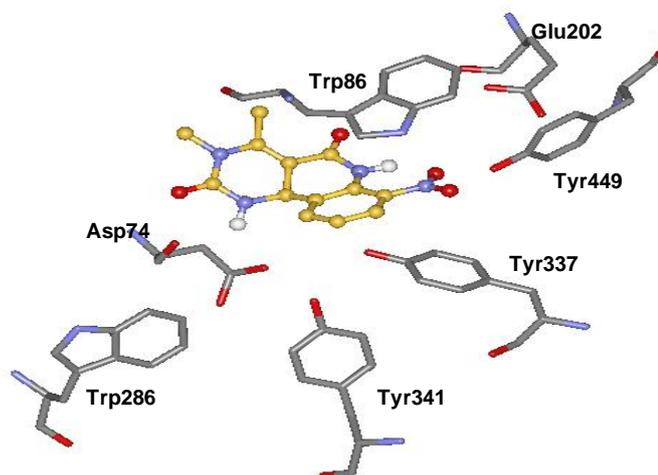
En vue d'optimiser le docking, les deux énantiomères sont pris en considération. Étonnement, une seule position différentes a été validée pour chacun d'entre eux.

- (S)-F23 : l'unique mode de connection, place le ligand dans le CC. Malgré l'interaction  $\pi$  attendue entre le noyau aromatique et Trp86, le ligand établi deux liaisons hydrogènes. La première entre le proton de la dihydropyrimidinone et Glu202. La seconde entre le groupement nitro et l'hydroxyle de Tyr337. De plus, deux liaisons hydrogènes supplémentaires peuvent se former entre le carbonyle, Tyr133 et Ser125.



**Figure 28 :** Composé (S)-F23 dans le CC

- (*R*)-F23: Le ligand se place exclusivement dans le CC, où la structure aromatique occupe la même position que pour son énantiomère (interaction  $\pi$  avec Trp286). Additionnellement, une liaison hydrogène est notée entre le groupement nitro et Tyr449, le carbonyl et le NH de la dihydropyrimidinone avec Asp74 .



**Figure 29 :** Composé (R)-F23 dans le CC

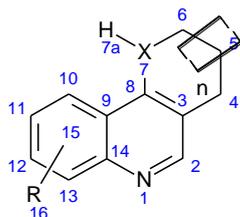
### 3.5. Conclusion

La modélisation moléculaire nous a permis de mettre en évidence les interactions présentes entre l'enzyme et les molécules actives.

**Au CC :** le noyau aromatique de la quinoléine permet des interactions  $\pi$  avec le Trp86 et/ou la Tyr337 excepté pour F17a. Dans ce cas, le noyau aromatique est perpendiculaire au Trp86 dû à la conformation prise par la molécule. Le groupement NH de la quinoléine interagit également au niveau du centre catalytique avec l'Asp74 et le Trp86. Seul le composé F23 n'interagit pas avec ce groupe. De plus la fonctionnalisation de la quinoléine donne des interactions supplémentaires. Le chlore forme une liaison hydrogène avec la Ser203, alors que le groupement nitro forme ces liaisons hydrogènes avec la Tyr337 ou 449.

**Au PAS :** Seul les composés F5 et F17a ont donné des interactions. Pour le composé F5 c'est le noyau quinoléique qui se fixe par interaction  $\pi$  et liaisons hydrogènes. La présence de l'amide et du motif resorcinol permet une interaction au niveau du PAS et présente ainsi un double potentiel.

Pour résumé, il semble important d'avoir un noyau quinoléique substitué en position 10 ou 13 de la quinoléine. Un donneur de liaison hydrogène en position 7. Les résultats du test biologique orienterait la structure vers un motif tricyclique angulaire.



# **CONCLUSION GÉNÉRALE**

## Conclusion générale

---

Au cours de notre thèse, nous avons réalisé un travail qui s'inscrit dans la thématique du laboratoire de chimie organique et thérapeutique de l'UFR SMP de Besançon et qui concerne la synthèse et l'évaluation biologique de nouveaux dérivés quinoléiques.

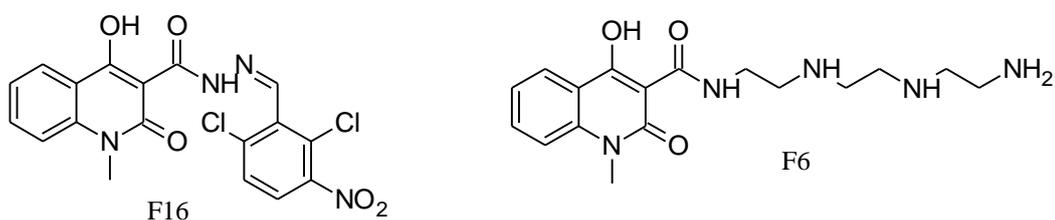
Nous nous sommes particulièrement intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante et inhibitrice de l'acétylcholinestérase des quatre séries de molécules synthétisées à structure quinoléine. Le choix de cet hétérocycle découle de ses propriétés biologiques et de leur implication dans les maladies neurodégénératives.

Nous avons tout d'abord rappelé quelles étaient les cibles thérapeutiques liées à la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Ceci dans le but de définir la place des dérivés quinoléiques dans cette pathologie.

Nous avons ensuite évoqué les activités biologiques et les principales méthodes de synthèse du noyau quinoléique. Cette première étude nous a permis de mettre en évidence l'activité de dérivés quinoléiques au niveau du système nerveux central et nous avons montré l'intérêt des structures envisagés dans la prévention ou le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Dans une troisième partie, nous avons présenté nos travaux de synthèse. La stratégie de synthèse des différents composés est basé sur une réaction clé qui correspond soit à la réaction de Niementowski, soit à celle de Biginelli.

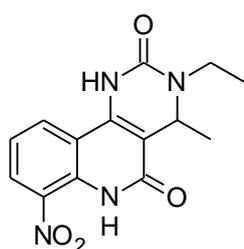
Par une étude pharmacochimique sur les deux premières séries de composés s'appuyant sur une approche « pharmacophore based design », nous avons pu établir deux pharmacophores originaux. Il s'est avéré que les composés issus de la série des 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides ont corrélés avec le pharmacophore antioxydant alors que ceux issus des 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides se sont révélés chélateur de métaux. Les tests chimiques réalisés ont pu confirmer ces préférences. Les meilleures activités ont été obtenues pour le composé F16 pour les molécules antioxydantes et le composé F6 pour les molécules chélatrices de métaux.



## Conclusion générale

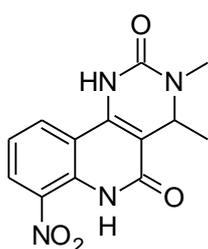
Cependant, le modèle antioxydant a montré quelques limites, en effet, la méthode que nous avons utilisée est qualitative. Elle a permis d'identifier des molécules antioxydantes sans toutefois pouvoir quantifier cette activité. Ce qui explique que l'ordre donné par le pharmacophore n'est pas toujours en accord avec celui donné par les tests. Les pharmacophores restent des modèles théoriques établis à partir de références dont l'activité n'est pas toujours connue de façon quantitative. La corrélation d'un composé avec le pharmacophore antioxydant n'implique pas obligatoirement une absence d'activité chélatrice des métaux et réciproquement. Toutefois, l'établissement de ces pharmacophores demeure intéressant lors d'une approche qualitative.

Parallèlement, nous avons évalué l'activité inhibitrice de cholinestérases sur nos dérivés quinoléiques issus de la réaction de Biginelli pour les dihydropyrimidoquinoléines et d'une variante de la réaction de Niementowski pour les pyrazoloquinoléines. Parmi ces composés, quelques-uns ont montré des activités prometteuses. Ces le cas des composés F22 et F23 pour les dihydropyrimidoquinoléines, et les composés F34 et F35 pour les pyrazolo quinoléines.



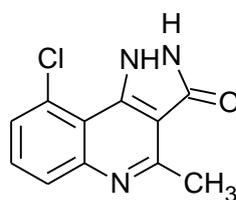
F22

$IC_{50}$  (AChE) =  $8 \pm 1 \mu M$



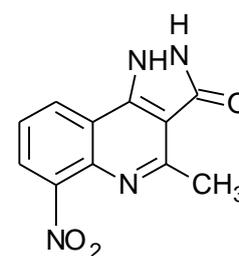
F23

$IC_{50}$  (AChE) =  $6 \pm 1 \mu M$



F34

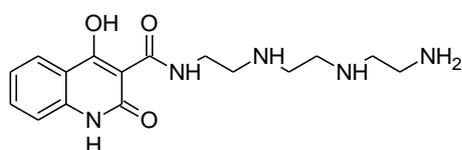
$IC_{50}$  (AChE) =  $7 \pm 4 \mu M$



F35

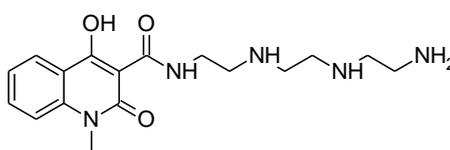
$IC_{50}$  (AChE) =  $1.04 \pm 0.25 \mu M$

Dans l'objectif d'obtenir des composés multifactoriels, l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase a été évaluée pour les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides et les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides. Seul le composé F6 a montré une activité intéressante et sélective pour la butyrylcholinestérase. Deux autres composés, F5 et F17a, ont montré une activité modérée pour l'acétylcholinestérase et/ou la butyrylcholinestérase.



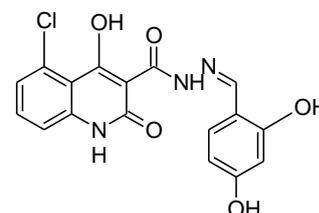
F5

$IC_{50}$  (AChE) =  $13 \pm 3 \mu M$   
 $IC_{50}$  (BuChE) =  $19 \pm 3 \mu M$   
Chélateur des métaux



F6

$IC_{50}$  (BuChE) =  $5.2 \pm 1 \mu M$   
Chélateur des métaux



F17a

$IC_{50}$  (AChE) =  $12 \pm 1 \mu M$   
Antioxydant

Le docking des différents composés acifs avec l'enzyme a permis de mettre en évidence les interactions impliquées dans l'activité des composés. En effet, nous avons pu constater d'après les études et les résultats obtenus l'importance de différents éléments tels que les substituants et le squelette de la structure polycyclique. Il ressort de cette étude l'importance d'une substitution par un groupement attracteur en position 7 ou 5 du noyau quinoléique et un motif tricycliqueangulaire serait le plus favorable à l'activité biologique. Le groupement NO<sub>2</sub> en position 7, ainsi que le chlore en position 5 du noyau quinoléique interviennent favorablement pour l'activité sur l'acétylcholinestérase. De plus, pour la série des pyrazoloquinoléines, les structures angulaires synthétisées avec l'hydrazine ont montré une meilleure activité que leurs analogues linéaires. D'autre part, la *N*-substitution de l'hydrazine semble défavorable à l'activité inhibitrice de l'enzyme.

Des études complémentaires de pharmacomodulation seront à poursuivre afin d'optimiser le rôle des substituants responsables de l'activité biologique et pour établir de nouvelles relations structures activité dans le cadre de la prévention ou du traitement de la maladie d'Alzheimer.

# **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

## Généralités

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince réalisées sur des plaques analytiques prêtes à l'emploi recouverte de gel de silice. La lecture des plaques se fait par UV.

Les points de fusion sont déterminés sur banc **Kofler**.

Les spectres IR sont enregistrés sur un appareil **Shimadzu FTIR-8201 PC spectrometer**. Les principales bandes d'absorption sont données en  $\text{cm}^{-1}$ . Ces spectres sont réalisés à partir d'échantillon dispersé dans une poudre de KBr.

Les spectres de RMN sont enregistrés en solution dans le diméthylsulfoxyde hexadeutérié ( $\text{DMSO-}d_6$ ) sur un appareil **Brucker AC 300** à aimant supraconducteur de 7.05T ( $^1\text{H}$  résonne à 300MHz et  $^{13}\text{C}$  à 75MHz). Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont donnés en ppm, suivis, pour les spectres RMN  $^1\text{H}$ , de la multiplicité, ou s, sl, d, t, q, dd, m, désignant respectivement les singulets, singulets larges, doublets, triplets, quadruplets, doublets de doublets, et multiplets (ou massifs peu résolus). Les multiplicités sont suivies le cas échéant de la valeur des constantes de couplages notées J.

Dans certains cas, on ne donnera que les attributions des signaux les plus significatifs. En effets, pour les molécules polycycliques aromatiques, il est difficile d'attribuer avec certitude tous les signaux.

Dans le cas de l'analyse élémentaire, le pourcentage sur l'oxygène a été obtenu par différence.

Les produits chimiques ont été fournis par **Sigma-aldrich**, **Acros** et sont utilisés sans purifications supplémentaires. Les solvants sont utilisés tels quels.

## **Modes opératoires généraux**

### *Estérification*

#### Mode opératoire A

Dans un bain de glace est placé un ballon contenant le DMF (50mL). Le NaH (2eq) puis le malonate d'éthyle (5eq) sont introduits par petites portions. Une fois la solution limpide, l'anhydride isatoïque (1eq) est ajouté et le ballon est placé à reflux (150°C) pendant 2h30. Le résidu formé est dissout dans l'eau et quelques gouttes d'HCl sont ajoutées. Le précipité formé est dissout dans le dichlorométhane puis lavé à l'eau. La phase organique est séchée filtrée et évaporée sous pression réduite.

#### Mode opératoire B

Dans un bain de glace est placé un ballon contenant l'anhydride isatoïque (1eq) solubilisé dans le DMF. Le NaH (2.5eq) est introduit par petites portions. Une fois le mélange limpide, le malonate d'éthyle (1,1eq) est introduit. Après 5h à reflux (85°C) est ajouté 70ml d'eau puis quelques gouttes d'HCl. Le précipité formé est filtré.

#### Mode opératoire C

L'hydruure de sodium (4eq) est additionné par petites portions à un mélange d'acétoacétate d'éthyle (5eq) et de *N,N*-diméthylacétamide (5-50mL) et agité à température ambiante. Une solution contenant l'anhydride isatoïque correspondant (1eq) dans le *N,N*-diméthylacétamide (5-50mL) est additionné au mélange précédent puis chauffé à 140°C pendant 15min. Le mélange est ensuite concentré, suivi d'une addition d'eau et placé dans un bac à ultrasons. Le solide formé est récupéré par filtration et séché pour donner la quinoléine correspondante.

### Mode opératoire D

L'anydride isatoïque correspondant (1eq) est solubilisé dans 5mL de DMA. En parallèle est préparé une solution contenant le malonate de diéthyle (2eq) et le NaOtBu (6eq) dans 5mL de DMA. Cette solution est additionnée à la précédente. Le mélange réactionnel est chauffé à 95°C pendant 1h. Après retour à température ambiante, on ajoute 20mL d'HCl 2N, puis la solution est agité vigoureusement pendant 1h. Le solide obtenu est ensuite lavé à l'eau et à l'éther.

## *Trans-amidification*

### Mode opératoire A

Dans le méthanol est solubilisé l'ester puis est ajouté l'hydrazine. Une fois le mélange limpide il est mis à chauffer 30min à 100°C. Le mélange est laissé revenir à température ambiante puis filtré.

### Mode opératoire B

L'amine (1.2eq) est solubilisée dans le xylène puis l'ester est introduit. Le mélange est chauffé à 150°C pendant 2h. Le solide récupéré et lavé à l'éther.

## *Addition nucléophile*

### Mode opératoire A

Le 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazide (1eq) est solubilisé dans le DMSO puis est ajouté le benzaldéhyde (1eq) correspondant. Quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Une fois le mélange réactionnel limpide, la solution est portée à reflux (100°C) pendant 1h. Après retour à température ambiante de la solution, 80mL d'eau sont ajoutés. La quinoléine correspondante est récupérée par filtration sans autre purification.

### Mode opératoire B

Le 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazide (1eq) est solubilisé dans l'acide cétyque glacial, puis est ajouté le nucléophile correspondant (2-5eq). La solution est portée à reflux (100°C) pendant 1h. Après retour à température ambiante de la solution, la quinoléine correspondante est récupérée par filtration sans autre purification.

### *Réaction de Biginelli*

Dans un ballon sont placés, l'acétoacétate d'éthyle (1-1.5eq) et l'acide acétique. On introduit par la suite l'urée correspondante (1.2-1.5eq), l'acide borique (1.2eq) et l'aldéhyde correspondant (1eq). La solution est ensuite mise sous agitation à 85°C pendant 24h. Une fois revenu à température ambiante le mélange réactionnel est versé dans un mélange de glace (50-150g) et d'éthanol (30-90mL) le précipité est récupéré par filtration et utilisé tel quel pour la suite des réactions.

### *Réaction de cyclisation*

#### Mode opératoire A

Dans une cuve sous pression, le composé issu de la réaction de Biginelli (1eq) est mis en solution dans l'ammoniaque à 28% puis chauffé à 250°C (10bars) pendant 20h. Le mélange réactionnel est ensuite laissé refroidir pendant 24h. La solution est filtrée une première fois puis le filtrat est récupéré pour être neutralisé avec HCl concentré. Le précipité formé est récupéré puis lavé à l'eau.

#### Mode opératoire B

La quinoléine (1eq) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (0.7eq) et l'éthoxyéthanol (10-50mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, soit le précipité formé est filtré et lavé à l'éther, soit le mélange

réactionnel est évaporé, dissout dans le dichlorométhane, puis lavé avec l'eau. La phase organique est ensuite séchée sur le sulfate de sodium, filtrée puis évaporée.

### *Chloration*

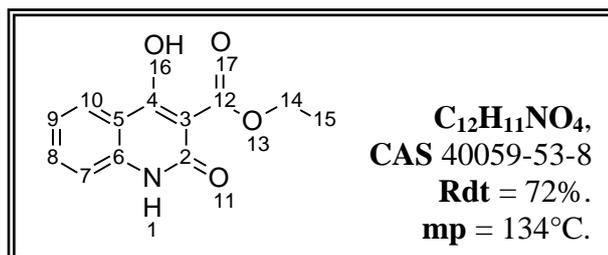
Le 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxylate (1eq) est mis en solution dans  $\text{POCl}_3$  (3-10mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux 1h. La solution est ensuite laissée revenir à température ambiante puis neutralisée à  $0^\circ\text{C}$  avec de l'eau glacé et la soude 10N. Le solide formé est récupéré par filtration sans autre purification.

### *N-méthylation*

L'anhydride isoïque correspondant (1eq) est solubilisé dans le DMA (10mL) et le DIPEA (3eq) est additionné. La solution est laissée sous agitation 10min. L'iodométhane (4eq) est ajouté puis le mélange réactionnel est chauffé 3h à  $50^\circ\text{C}$ . Après retour à température ambiante 25mL d'eau sont additionnés puis la réaction est laissée sous agitation vigoureuse. Le précipité formé est ensuite filtré et lavé à l'éther.

### *N-benzylation*

L'anhydride isoïque correspondant (1eq) est mis en solution dans le DMA (5mL) puis est ajouté le DIPEA (3eq). La solution est agitée 10min puis le bromure de benzyle (3eq) est introduit. Le mélange réactionnel est chauffé à  $80^\circ\text{C}$  pendant 3h. La solution est ensuite laissée revenir à température ambiante. On additionne 10mL d'eau, la suspension obtenue est agitée vigoureusement pendant 30min, filtrée puis lavée à l'eau et à l'éther.

**Ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (2a) :** [153]

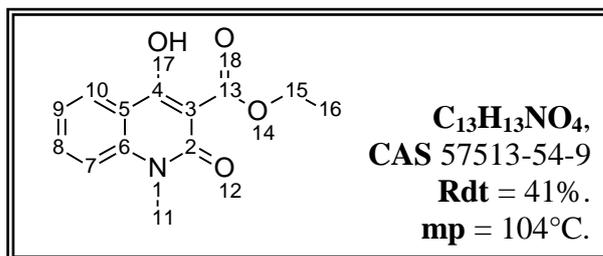
Selon le mode opératoire A de l'estérification, le NaH (1.6g, 66.7mmol) et le malonate de diéthyle (25mL, 165mmol) sont solubilisés dans le DMF (50mL). L'anhydride isatoïque (5.6g, 34.4mmol) est ajouté puis la solution est chauffée 2h30 à 150°C. Une fois la solution traitée le produit est filtré et utilisé tel quel pour les réactions suivantes.

**IR** (KBr)  $\nu$  3406, 3193, 1658, 1604  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.47 (s, 1H, NH), 7.94 (d, J = 8.1Hz, 1H, H7), 7.62 (t, J = 7.2Hz, 1H, H9), 7.27 (d, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.20 (t, J = 7.5Hz, 1H, H8), 4.34 (q, J = 6.9Hz, 2H, H14), 1.31 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Calc** = C(61.80%) H(4.75%) N(6.01%) O(27.44%).

**Exp** = C(61.72%) H(4.78%) N(6.10%) O(27.40%).

**Ethyl 4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (2b) : [153]**

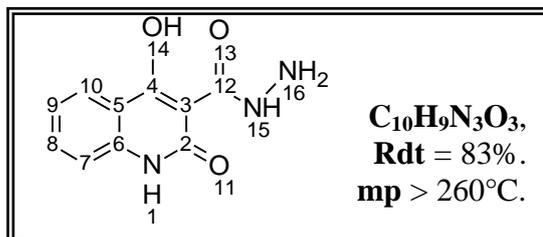
Selon le mode opératoire A de l'estérification, le NaH (0.52g, 21.5mmol) et le malonate de diéthyle (8mL, 54.2mmol) sont solubilisés dans le DMF (17mL). Le *N*-méthylanydride isatoïque (2g, 11.3mmol) est ajouté puis la solution est chauffée 2h30 à 150°C. Une fois la solution traitée le produit est filtré et utilisé tel quel pour les réactions suivantes.

**IR** (KBr)  $\nu$  1631, 1593, 1562cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.05 (d, *J* = 7.8Hz, 1H, H10), 7.45 (t, *J* = 7.5Hz, 1H, H9), 7.52 (d, *J* = 8.4Hz, 1H, H7), 7.31 (t, *J* = 7.2Hz, 1H, H8), 4.33 (q, *J* = 7.2Hz, 2H, H15), 3.54 (s, 3H, H11), 1.30 (t, *J* = 7.2Hz, 3H, H16).

**Calc** = C(63.15%) H(5.30%) N(5.67%) O(25.88%).

**Exp** = C(63.24%) H(5.27%) N(5.61%) O(25.88%).

**4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F1 ou 5a) : [103]**

Selon le mode opératoire A de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (2g, 8.58mmol) et l'hydrazine (0.52g, 16.3mmol) sont solubilisés dans le méthanol (20mL) puis porté à reflux pendant 30min. Le produit est filtré puis récupéré sans autre purification.

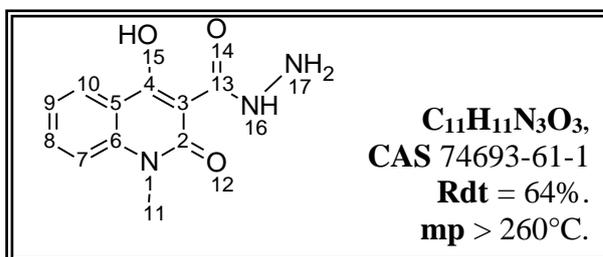
**IR** (KBr)  $\nu$  3166, 1674, 1616, 1531cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.89 (s, 1H, NH), 10.97 (s, 1H, NH), 7.97 (d, J = 7.9Hz, 1H, H7), 7.68 (t, J = 7.2Hz, 1H, H9), 7.36 (d, J = 8.3Hz, 1H, H10), 7.29 (t, J = 7.3Hz, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  189.92 (CO, C4), 156.87 (CO, C2), 135.38 (C, C6), 134.96 (CH, C8), 134.37 (CH, C9), 132.56 (CH, C10), 131.77 (CH, C7), 130.33 (C, C5), 129.57 (C, C12).

**Calc** = C(54.79%) H(4.14%) N(19.17%) O(21.90%).

**Exp** = C(54.85%) H(4.08%) N(19.90%) O(21.17%).

**4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F2 ou 5b) : [103]**

Selon le mode opératoire A de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (2g, 8.10mmol) et l'hydrazine (0.48g, 15.0mmol) sont solubilisés dans le méthanol (20mL) puis porté à reflux pendant 30min. Le produit est filtré puis récupéré sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3328, 3240, 1647, 1589, 1519cm<sup>-1</sup>.

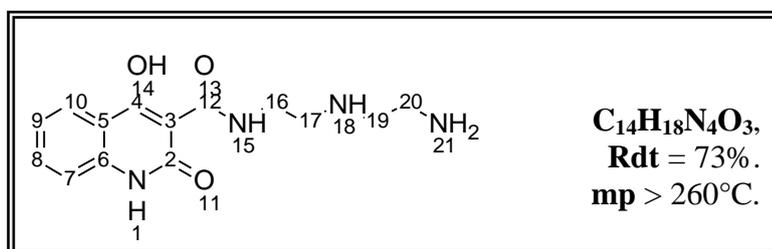
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.00 (s, 1H, NH), 8.09 (d, J = 7.2Hz, 1H, H10), 7.81 (t, J = 7.3Hz, 1H, H9), 7.62 (d, J = 8.6Hz, 1H, H7), 7.38 (t, J = 7.3Hz, 1H, H8), 4.90 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.63 (s, 3H, H11).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  171.06 (CO, C4), 167.83 (CO, C13), 139.95 (C, C6), 134.43 (CH, C8), 124.70 (CH, C9), 122.85 (CH, C10), 121.74 (CH, C7), 114.78 (C, C5), 96.09 (C, C3), 29.43 (CH<sub>3</sub>, C11).

**Calc** = C(56.65%) H(4.75%) N(18.02%) O(20.58%).

**Exp** = C(56.52%) H(4.79%) N(18.11%) O(20.58%).

**N-{2-[(2-aminoethyl)amino]ethyl}-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (F3): [103] (adaptée)**



Selon le mode opératoire B de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (1g, 4.29mmol) et la diéthyltriamine (0.54g, 5.23mmol) sont solubilisés dans le xylène (20mL) puis porté à reflux pendant 2h. Le produit est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1651, 1608, 1542cm<sup>-1</sup>.

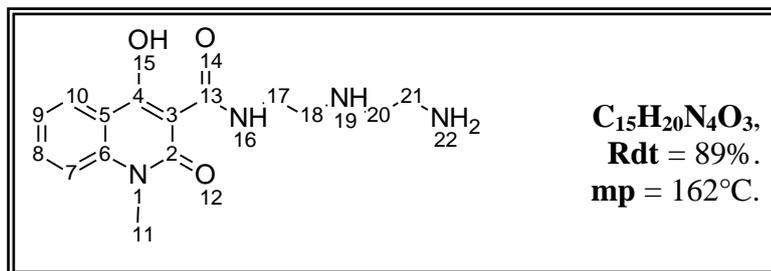
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.76 (s, 1H, NH), 7.03 (t, J = 7.9Hz, 1H, H9), 6.65 (d, 7.3Hz, 1H, H7), 6.35 (t, J = 7.9Hz, 1H, H10), 6.25 (t, J = 7.3Hz, 1H, H8), 4.55 (m, NH<sub>2</sub>), 1.87-1.60 (m, 8H H16, H17, H19, H20).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  173.38 (COH, C4), 171.06 (CO, C2), 163.44 (CO, C12), 139.39 (C, C6), 133.33 (CH, C8), 124.51 (CH, C9), 122.07 (CH, C10), 116.59 (CH, C7), 116.31 (C, C5), 96.35 (C, C3), 49.82 (CH<sub>2</sub>, C19), 49.35 (CH<sub>2</sub>, C17), 48.41 (CH<sub>2</sub>, C20), 48.17 (CH<sub>2</sub>, C16).

**Calc** = C(57.92%) H(6.25%) N(19.30%) O(16.53%).

**Exp** = C(57.88%) H(6.26%) N(19.41%) O(16.45%).

**N-[2-[(2-aminoethyl)amino]ethyl]-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (F4): [103] (adaptée)**



Selon le mode opératoire B de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (1g, 4.05mmol) et la diéthyltriamine (0.50g, 4.85mmol) sont solubilisés dans le xylène (20mL) puis porté à reflux pendant 2h. Le produit est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3305, 1630, 1556, 1500  $\text{cm}^{-1}$ .

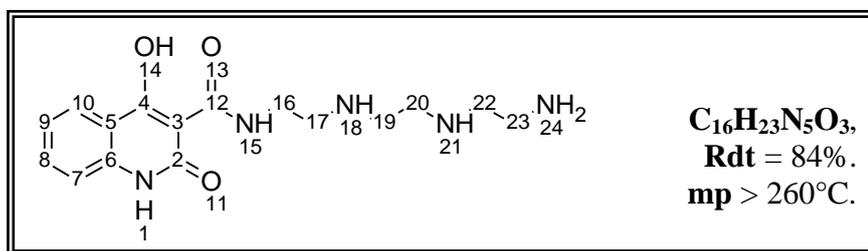
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.46 (s, 1H, NH), 7.04 (d, J = 7.8Hz, 1H, H10), 6.62 (t, J = 8.3Hz, 1H, H9), 6.41 (d, J = 8.4Hz, 1H, H7), 6.19 (t, J = 7.3Hz, 1H, H8), 2.42 (s, 3H, H11), 1.68-1.47 (m, 8H, H17, H18, H20, H21).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  172.11 (COH, C4), 170.53 (CO, C2), 162.34 (CO, C13), 140.14 (C, C6), 133.57 (CH, C8), 126.28 (CH, C9), 125.14 (CH, C7), 122.04 (CH, C10), 115.16 (C, C5), 50.46 (2xCH<sub>2</sub>, C20, C18), 48.22 (2xCH<sub>2</sub>, C21, C17), 29.11 (CH<sub>3</sub>, C11).

**Calc** = C(59.20%) H(6.62%) N(18.41%) O(15.77%).

**Exp** = C(59.31%) H(6.58%) N(18.34%) O(15.77%).

**N-[2-({2-[(2-aminoethyl)amino]ethyl}amino)ethyl]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (F5): [103] (adaptée)**



Selon le mode opératoire B de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.52g, 2.23mmol) et la triéthyltétramine (0.75g, 5.13mmol) sont solubilisés dans le xylène (20mL) puis porté à reflux pendant 2h. Le produit est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3163, 1651, 1624, 1554,  $\text{cm}^{-1}$ .

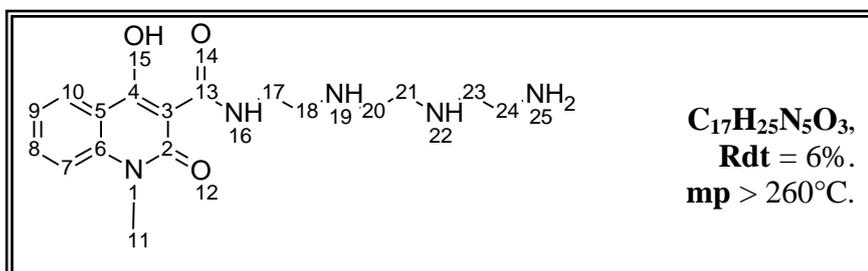
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$ . 10.82 (s, 1H, NH), 10.63 (s, 1H, NH), 7.92 (t, J = 7.7Hz, 1H, H7), 7.51 (t, J = 8.3Hz, 1H, H9), 7.26 (m, 1H, H10), 7.14 (m, 1H, H8), 4.23 (m, 4H, 2xNH, NH<sub>2</sub>), 2.65 (m, 12H, H16, H17, H19, H20, H22, H23).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  173.31 (COH, C4), 170.82 (CO), 163.43 (CO), 139.45 (C, C6), 133.28 (CH, C8), 124.85 (CH, C9), 122.04 (CH, C7), 116.36 (CH, C10), 96.36 (C, C3), 48.62 (2xCH<sub>2</sub>, C22, C17), 48.24 (2xCH<sub>2</sub>, C19, C20), 38.86 (2xCH<sub>2</sub>, C23, C16).

**Calc** = C(57.64%) H(6.95%) N(21.01%) O(14.40%).

**Exp** = C(57.70%) H(6.92%) N(21.06%) O(14.32%).

**N-[2-((2-[(2-aminoethyl)amino]ethyl)amino)ethyl]-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamide (F6) : Bioorg[103] (adaptée)**



Selon le mode opératoire B de la *trans*-amidification, l'éthyl 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (1g, 4.05mmol) et la triéthyltétramine (0.88g, 6.02mmol) sont solubilisés dans le xylène (20mL) puis porté à reflux pendant 2h. Le produit est filtré et lavé à l'éther.

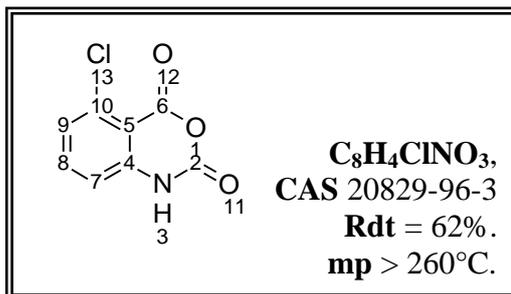
**IR** (KBr)  $\nu$  3382, 3213, 1645, 1566, 1501cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  10.48 (s, 1H, NH), 7.82 (d, J = 7.8Hz, 1H, H10), 7.66 (t, J = 7.2Hz, 1H, H9), 7.45 (d, J = 8.4Hz, 1H, H7), 7.19 (t, J = 7.2Hz, 1H, H8), 3.43 (m, 12H, H17, H18, H20, H21, H23, H24), 2.79 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.69 (s, 3H, 3xNH), 2.50 (s, 3H, H11).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  171.42 (COH, C4), 170.67 (CO, C2), 161.79 (CO, C13), 139.83 (C, C6), 133.99 (CH, C8), 124.60 (CH, C9), 122.34 (CH, C7), 115.80 (C, C5), 115.24 (CH, C10), 96.16 (CH, C3), 48.16 (2xCH<sub>2</sub>, C20, C21), 47.54 (2xCH<sub>2</sub>, C18, C23), 38.82 (2xCH<sub>2</sub>, C17, C24), 29.08 (CH<sub>3</sub>, C11).

**Calc** = C(58.77%) H(7.25%) N(20.16%) O(13.82%).

**Exp** = C(58.84%) H(7.21%) N(20.05%) O(13.90%).

**5-chloro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (7) : [157]**

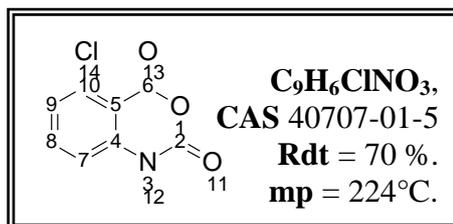
A une solution de triphosgène (1.07g, 3.61mmol) dans le dioxane (30mL) est ajouté goutte à goutte une solution d'acide 2-amino-6-chlorobenzoïque (1g, 5.83mmol) dans le dioxane (30mL). Le mélange réactionnel est placé dans un bain d'eau glacée afin de maintenir la température inférieure à 20°C. Après 3h d'agitation la solution est filtrée puis lavé à l'eau. Le solide blanc obtenu est utilisé sans purification supplémentaire.

**IR** (KBr)  $\nu$  3486, 3186, 1774, 1701, 1612, 1593cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.85 (s, 1H, NH), 7.66 (t, J = 8.3Hz, 1H, H8), 7.31 (d, J = 7.9Hz, 1H, H9), 7.10 (d, J = 8.3Hz, 1H, H7).

**Calc** = C(48.63%) H(2.04%) Cl(17.94%) N(7.09%) O(24.29%).

**Exp** = (48.67%) H(2.06%) Cl(17.85%) N(7.18%) O(24.24%).

**5-chloro-1-methyl-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (10) : [109]**

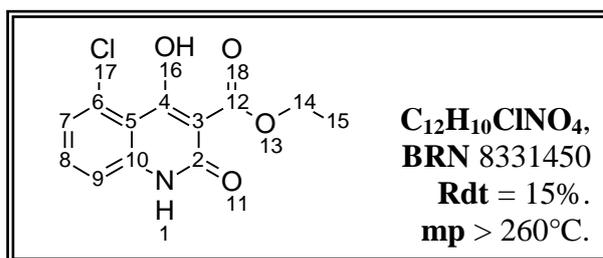
Selon la procédure de N-méthylation, 200mg du 5-chloro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (1.01mmol) sont additionnés à une solution contenant 1.5mL de MeI (4.6mmol) et 1mL de DIPEA dans un 10mL de DMA. Après 5 h à 40°C, la réaction est laissée à TA toute une nuit. On ajoute 10mL d'H<sub>2</sub>O, le solide formé est filtré et lavé à l'eau (150,1mg).

**IR** (KBr)  $\nu$  1774, 1716, 1593cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.78 (t, J = 8.1Hz, 1H, H8), 7.42 (d, J = 8.4Hz, 2H, H9, H7), 3.45 (s, 3H, H12).

**Calc** = C(51.08%) H(2.86%) Cl(16.75%) N(6.62%) O(22.68%).

**Exp** = C(51.12%) H(2.36%) Cl(16.71%) N(6.58%) O(23.23%).

**Ethyl 5-chloro-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (8) : [153] (adaptée)**

Selon le mode opératoire B de l'estérification, le 5-chloro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (1g, 5.06mmol) est solubilisé à froid dans le DMF (20mL). L'hydrure de sodium (0.13g, 5.42mmol) et le malonate de diéthyle (0.96g, 6mmol) sont additionnés par petites portions. Une fois le mélange limpide, le ballon est chauffé (85°C) pendant 5h. Une fois l'eau ajoutée, le produit est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  1685, 1635, 1616, 1593, 1542cm<sup>-1</sup>.

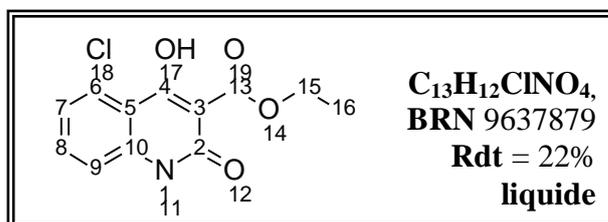
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.62 (s, 1H, NH), 7.51 (s, 1H, H8), 7.23 (m, 2H, H7, H9), 4.35 (q, J = 7.1Hz, 2H, H14), 1.28 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Calc** = C(53.85%) H(3.77%) Cl(13.25%) N(5.23%) O(23.91%)

**Exp** = C(53.72%) H(3.81%) Cl(13.18%) N(5.31%) O(23.98%).

**Ethyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (11):**

[153] (adaptée)



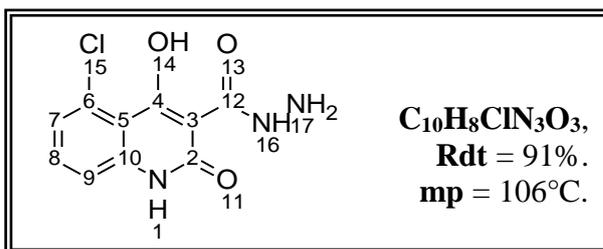
Selon le mode opératoire B de l'estérification, le 5-chloro-1-méthyl-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (602 mg, 2.84 mmol) est solubilisé à froid dans le DMF (20mL). L'hydrure de sodium (135 mg, 5.62 mmol) et le malonate de diéthyle (1.7 mL, 11.1 mol) sont additionnés par petites portions. Une fois le mélange limpide, le ballon est chauffé (85°C) pendant 5h. Une fois l'eau ajoutée, le produit est récupéré par extraction avec l'acétate d'éthyle et purifié sur colonne chromatographique.

**IR** (KBr)  $\nu$  2977, 2930, 1730, 1640, 1594, 1567, 1525 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.84 (s, 1H, OH), 7.67 (t, J = 8.1Hz, 1H, H8), 7.52 (d, J = 8.7Hz, 1H, H9), 7.36 (d, J = 7.8Hz, 1H, H7), 4.35 (q, J = 6.9Hz, 2H, H15), 3.55 (s, 3H, H11), 1.31 (t, J = 7.2Hz, 3H, H16).

**Calc.** = C(55.43%) H (4.29%) Cl (12.59%) N (4.97%) O (22.72%).

**Exp** = C(55.34%) H (4.21%) Cl (12.69%) N (4.89%) O (22.87%).

**5-chloro-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (9) : [103]**

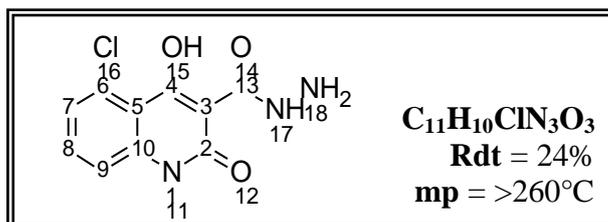
Selon le mode opératoire A de la *trans*-amidification, l'éthyl 5-chloro-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.5g, 1.87mmol) et l'hydrazine (0.27g, 8.44mmol) sont solubilisés dans le méthanol (20mL) puis porté à reflux pendant 30min. Le produit est filtré puis récupéré sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3301, 1670, 1546cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.68 (s, 1H, NH), 11.12 (s, 1H, NH), 7.89 (s, 1H, H8), 7.41 (m, 2H, H7, H9), 3.73 (s, 2H, NH<sub>2</sub>).

**Calc** = C(47.35%) H(3.18%) Cl(13.98%) N(16.57%) O(18.92%).

**Exp** = C(47.31%) H(3.20%) Cl(13.95%) N(16.63%) O(18.91%).

**5-chloro-4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (12): [103]**

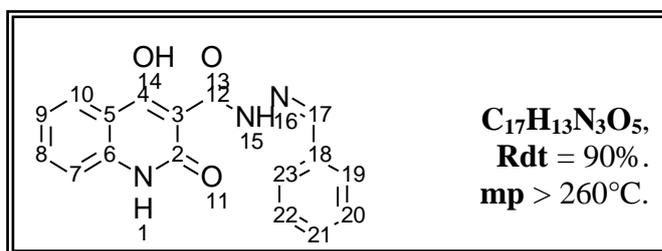
Selon le mode opératoire A de la *trans*-amidification, l'éthyl 5-chloro-4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (177 mg, 0.63 mmol) et l'hydrazine (40  $\mu$ L, 1.26 mmol) sont solubilisés dans le méthanol (20mL) puis porté à reflux pendant une nuit. Le produit est filtré puis récupéré sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3320, 3211, 1608  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  18.10 (s, 1H, OH), 11.15 (s, 1H, NH), 7.68 (t, J = 1.2Hz, 1H, H8), 7.61 (d, J = 5.1Hz, 1H, H8), 7.41 (s, 1H, H7), 4.98 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.63 (s, 3H, H11).

**Calc** = C(49.36%) H(3.77%) Cl(13.25%) N(15.70%) O(17.93%).

**Exp** = C(49.41%) H(3.78%) Cl(13.19%) N(15.78%) O(17.84%).

**4-hydroxy-2-oxo-N'-[(Z)-phenylmethylidene]-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide****(F0) :** [155]

Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.25g, 1.14mmol), le benzaldéhyde (0.34, 3.21mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 4-hydroxy-2-oxo-N'-[(Z)-phenylmethylidene]-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

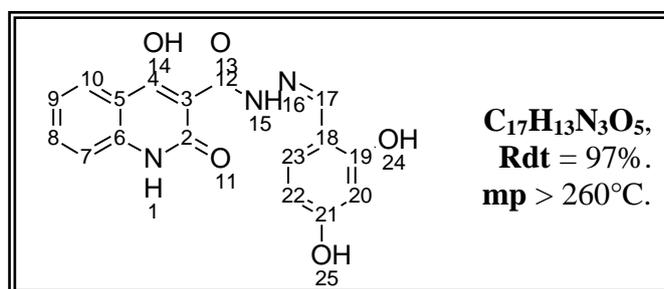
**IR** (KBr)  $\nu$  3143, 3005, 1600, 1546, 1492cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  16.76 (s, 1H, OH), 13.31 (s, 1H, NH), 12.04 (s, 1H, NH), 8.46 (s, 1H, H17), 7.98 (d, J = 7.4Hz, 1H, H7), 7.78 (m, 2H, H19, H23), 7.70 (t, J = 7.3Hz, 1H, H9), 7.46 (m, 3H, H22, H21, H20), 7.40 (d, J = 8.8Hz, 1H, H10), 7.29 (t, J = 8.4Hz, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  172.86 (COH), 167.53 (CO), 162.44 (CO), 150.86 (CH, C17), 138.89 (C, C6), 134.28 (CH, C10), 133.82 (C, C18), 130.71 (CH, C21), 128.92 (2xCH, C22, C20), 127.61 (2xCH, C23, C19), 124.08 (CH, C7), 122.70 (CH, C9), 116.04 (CH, C8), 114.19 (C, C5), 96.01 (C, C3).

**Calc** = C(60.18%) H(3.86%) N(12.38%) O(23.58%).

**N'-[(1E)-(2,4-dihydroxyphenyl)methylidene]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F7): [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.50g, 2.28mmol), le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde (0.314, 2.28mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le N'-[(1E)-(2,4-dihydroxyphenyl)methylidene]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3205, 1658, 1558cm<sup>-1</sup>.

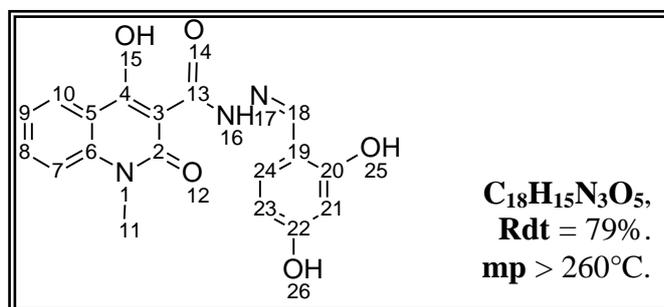
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.19 (s, 1H, NH), 12.01 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, OH), 10.11 (s, 1H, OH), 8.51 (s, 1H, H17), 7.96 (d, J = 7.8Hz, 1H, H7), 7.66 (t, J = 7.7Hz, 1H, H9), 7.34 (t, J = 7.3Hz, 2H, H10, H23), 7.27 (t, J = 7.7Hz, 1H, H8), 6.34 (dd, J = 8.43, 2.2Hz, 1H, H22), 6.29 (s, 1H, H20).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  172.84 (CO), 166.94 (CO), 161.74 (COH), 160.04 (COH), 151.95 (CH, C17), 139.17 (C, C6), 134.46 (CH, C10), 133.29 (C, C18), 131.95 (CH, C23), 124.33 (CH, C7), 122.95 (CH, C9), 116.34 (CH, C8), 114.47 (C, COH), 110.64 (C, C5), 108.36 (CH, C22), 102.98 (CH, C20), 96.24 (C, C3).

**Calc** = C(60.18%) H(3.86%) N(12.38%) O(23.58%).

**Exp** = C(60.24%) H(3.84%) N(12.31%) O(23.61%).

**N'-[(1E)-(2,4-dihydroxyphenyl)methylene]-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F8) : [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.20g, 1.07mmol), le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde (0.15, 1.07mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le N'-[(1E)-(2,4-dihydroxyphenyl)methylene]-4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

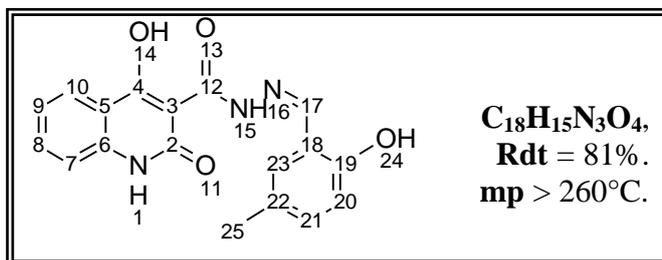
**IR** (KBr)  $\nu$  3460, 1624, 1581cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.25 (s, 1H, NH), 11.15 (s, 1H, OH), 10.10 (s, 1H, OH), 8.58 (s, 1H, H17), 8.12 (d, J = 7.7Hz, 1H, H10), 7.83 (t, J = 7.7Hz, 1H, H9), 7.65 (d, J = 8.6Hz, 1H, H7), 7.38 (m, 2H, H8, H24), 6.39 (dd, J = 8.4, 1.7Hz, 1H, H23), 6.33 (s, 1H, H21), 3.66 (s, 3H, H11).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  171.78 (CO), 167.09 (CO), 161.76 (COH), 160.07 (COH), 152.18 (CH, C18), 140.38 (C, C6), 134.85 (CH, C10), 135.82 (C, C19), 131.98 (CH, C24), 124.93 (CH, C7), 123.07 (CH, C9), 115.84 (CH, C8), 113.45 (C, COH), 110.66 (C, C5), 108.37 (CH, C23), 103.01 (CH, C21), 96.19 (C, C3), 29.59 (CH<sub>3</sub>, C11).

**Calc** = C(61.19%) H(4.28%) N(11.89%) O(22.64%).

**Exp** = C(61.25%) H(4.23%) N(11.84%) O(22.68%).

**4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-methylphenyl)methylene]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F9) : [155]**

Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.25g, 1.14mmol), le 2-hydroxy-5-méthyl-benzaldéhyde (0.15, 1.10mmol) sont mis en solution dans le DMSO (20mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 4-hydroxy-N'-[(1<sup>E</sup>)-(2-hydroxy-5-méthylphényl)méthylène]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3001, 1651, 1612, 1581, 1546cm<sup>-1</sup>.

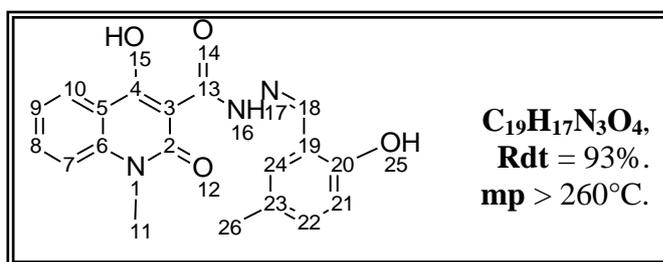
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.65 (s, 1H, NH), 12.32 (s, 1H, NH), 11.06 (s, 1H, OH), 9.18 (s, 1H, OH), 8.87 (s, 1H, H17), 8.27 (d, J = 7.9Hz, 1H, H7), 7.97 (t, J = 7.5Hz, 1H, H9) 7.67 (s, 1H, H23), 7.57 (t, J = 7.5Hz, 1H, H8), 7.39 (d, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.11 (m, 2H, H20, H21), 2.75 (s, 3H, H25).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  167.36 (CO), 162.80 (CO), 156.85 (COH), 155.81 (COH), 150.71 (CH, C17), 139.18 (C, C6), 134.28 (CH, C10), 133.08 (CH, C18), 130.82 (CH, C23), 129.65 (CH, C20), 128.37 (CH, C7), 124.51 (CH, C9), 122.96 (CH, C8), 121.20 (CCH<sub>3</sub>), 118.50 (C, C5), 116.70 (CH, C21), 115.29 (C, C3), 20.31 (CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(64.09%) H(4.48%) N(12.46%) O(18.97%).

**Exp** = C(64.12%) H(4.46%) N(12.38%) O(19.04%).

**4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-methylphenyl)méthylène]-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F10) : [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.25g, 1.07mmol), le 2-hydroxy-5-méthyl-benzaldéhyde (0.15, 1.10mmol) sont mis en solution dans le DMSO (20mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-méthylphényl)méthylène]-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  2985, 1624, 1589, 1558, 1519cm<sup>-1</sup>.

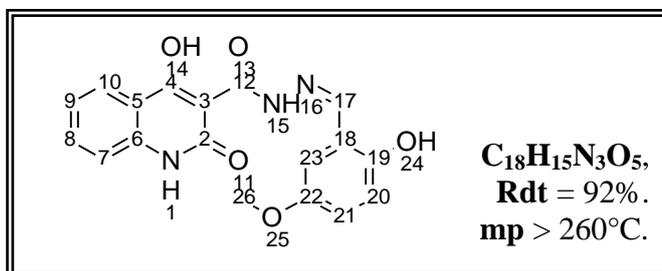
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.55 (s, 1H, NH), 9.95 (s, 1H, OH), 7.81 (s, 1H, H18), 7.30 (d, J = 7.7Hz, 1H, H10), 7.00 (t, J = 8.1Hz, 1H, H9), 6.82 (d, J = 8.6Hz, 1H, H7), 6.58 (t, J = 7.5Hz, 1H, H8), 6.53 (s, 1H, H24), 6.30 (d, J = 8.3Hz, 1H, H21), 6.01 (d, J = 8.3Hz, 1H, H22), 2.83 (s, 3H, H11), 1.41 (s, 3H, H26).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  155.84 (COH), 146.59 (CH, C18), 140.34 (C, C6), 134.85 (CH, C10), 133.02 (CH, C19), 129.74 (2xCH, C24, C21), 128.55 (CH, C7), 125.05 (CH, C9), 122.96 (CH, C8), 118.49 (CCH<sub>3</sub>), 116.69 (2xCH, C5, C21), 115.80 (C, C3), 29.56 (NCH<sub>3</sub>), 20.29 (C, CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(64.95%) H(4.88%) N(11.96%) O(18.21%).

**Exp** = C(64.92%) H(4.86%) N(11.95%) O(18.27%).

**4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-methoxyphenyl)methylene]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F11) : [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.40g, 1.83mmol), le 2-hydroxy-5-méthoxybenzaldéhyde (0.28, 1.84mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 4-hydroxy-N'-[(1<sup>E</sup>)-(2-hydroxy-5-méthoxyphényl)méthylène]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3355, 1670, 1651, 1577, 1542cm<sup>-1</sup>.

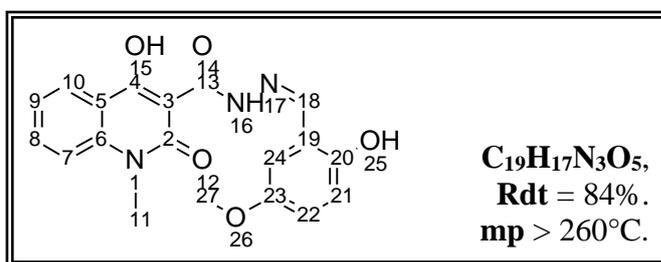
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.41 (s, 1H, NH), 10.43 (s, 1H, OH), 8.92 (s, 1H, OH), 8.58 (s, 1H, H17), 7.98 (d, J = 7.9Hz, 1H, H10), 7.68 (t, J = 7.9Hz, 1H, H9), 7.36 (d, J = 8.3Hz, 1H, H7), 7.23 (m, 2H, H8, H23), 7.12 (d, J = 2.8Hz, 1H, H21), 6.90 (m, 3H, NH, H20), 3.69 (s, 3H, H26).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  167.43 (CO), 162.37 (CO), 152.53 (COMe), 152.07 (COH), 150.43 (CH, C17), 139.18 (C, C6), 134.56 (CH, C10), 131.28 (CH, C18), 124.40 (CH, C7), 123.04 (CH, C23), 120.72 (COH), 119.41 (CH, C9), 118.90 (C, C5), 117.75 (CH, C8), 116.39 (CH, C21), 113.50 (C, C3), 112.67 (CH, C20), 55.84 (OCH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(61.19%) H(4.28%) N(11.89%) O(22.64%).

**Exp** = C(61.26%) H(4.25%) N(11.82%) O(22.67%).

**4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-methoxyphenyl)methylene]-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F12): [155]**



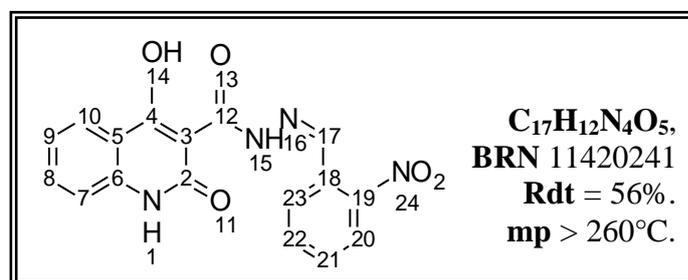
Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.25g, 1.07mmol), le 2-hydroxy-5-méthoxybenzaldéhyde (0.16, 1.05mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-hydroxy-5-méthoxyphényl)méthylène]-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  2966, 1643, 1562, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.49 (s, 1H, NH), 10.51 (s, 1H, OH), 8.65 (s, 1H, H18), 8.15 (d, J = 7.5Hz, 1H, H10), 7.82 (d, J = 7.0Hz, 1H, H9), 7.65 (d, J = 8.1Hz, 1H, H7), 7.40 (t, J = 7.2Hz, 1H, H8), 7.15 (s, 1H, H24), 6.92 (m, 2H, H21, H22) 3.74 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(62.12%) H(4.66%) N(11.44%) O(21.78%).

**Exp** = C(62.19%) H(4.63%) N(11.41%) O(21.77%).

**4-hydroxy-N'-[(1E)-(2-nitrophenyl)methylene]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F13): [155]**

Selon le mode opératoire B de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.20g, 0.91mmol), le 2-nitrobenzaldéhyde (0.31g, 2.05mmol) sont mis en solution dans le AcOH (20mL). Après 1h de reflux, le 4-hydroxy-N'-[(1<sup>E</sup>)-(2-nitrophenyl)methylene]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

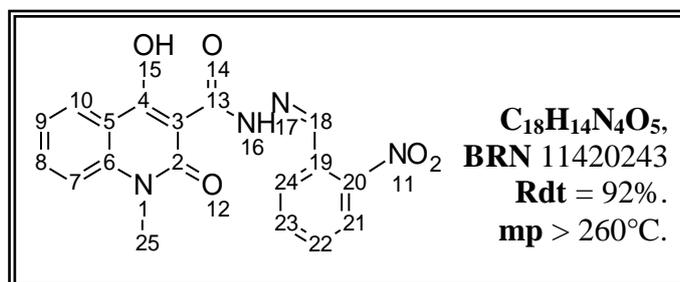
**IR** (KBr)  $\nu$  3328, 3298, 3031, 1635, 1604, 1554cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  16.45 (s, 1H, OH), 13.56 (s, 1H, NH), 12.14 (s, 1H, NH), 8.81 (s, 1H, H17), 8.05 (t, J = 8.9Hz, 1H, H22), 7.98 (d, J = 7.5Hz, 1H, H23), 7.86 (t, J = 6.9Hz, 1H, H21), 7.74 (m, 3H, H7, H9, H10), 7.39 (d, J = 8.7Hz, 1H, H20), 7.35 (t, J = 8.4Hz, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  168.65 (CO), 164.35 (CO), 155.13 (COH), 153.65 (CNO<sub>2</sub>), 146.95 (CH, C17), 134.18 (C, C6), 131.63 (CH, C10), 129.01 (CH, C22), 125.07 (CH, C25), 128.69 (C, C18), 125.07 (CH, C7), 124.48 (CH, C9), 123.16 (CH, C8), 123.08 (C, C5), 116.48 (CH, C20), 96.95 (C, C3).

**Calc** = C(57.96%) H(3.43%) N(15.90%) O(22.71%).

**Exp** = C(57.92%) H(3.45%) N(15.94%) O(22.69%).

**4-hydroxy-1-methyl-N'-[(1E)-(2-nitrophenyl)methylene]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F14): [155]**

Selon le mode opératoire B de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.20g, 0.86mmol), le 2-nitrobenaldéhyde (0.78g, 5.16mmol) sont mis en solution dans le AcOH (20mL). Après 1h de reflux, le 4-hydroxy-1-méthyl-N'-[(1E)-(2-nitrophenyl)méthylène]-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

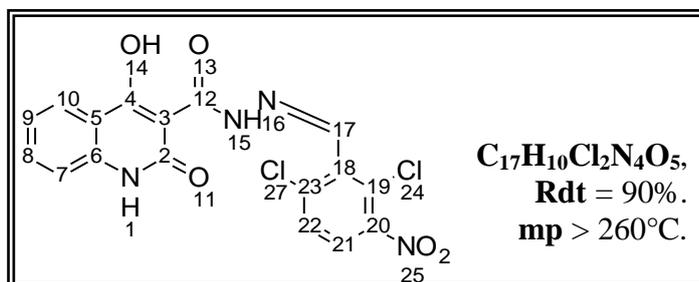
**IR** (KBr)  $\nu$  1670, 1566, 1523cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.67 (s, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, H18), 8.11 (t, J = 7.6Hz, 1H, H23), 8.07 (d, J = 7.5Hz, 1H, H24), 7.83 (t, J = 6.9Hz, 1H, H22), 7.67-7.48 (m, 3H, H7, H9, H10), 7.26 (m, 2H, H21, H8), 3.58 (s, 3H, H25).

**Calc** = C(59.02%) H(3.85%) N(15.29%) O(21.84%).

**Exp** = C(59.11%) H(3.82%) N(15.25%) O(21.82%).

**N'-[(1E)-(2,6-dichloro-3-nitrophenyl)methylene]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F15): [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.50g, 2.30mmol), le 2,6-dichloro-3-nitro-benzaldéhyde (1g, 4.55mmol) sont mis en solution dans le DMSO (40mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le N'-[(1E)-(2,6-dichloro-3-nitrophenyl)methylene]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3298, 3093, 1735, 1620, 1596, 1539cm<sup>-1</sup>.

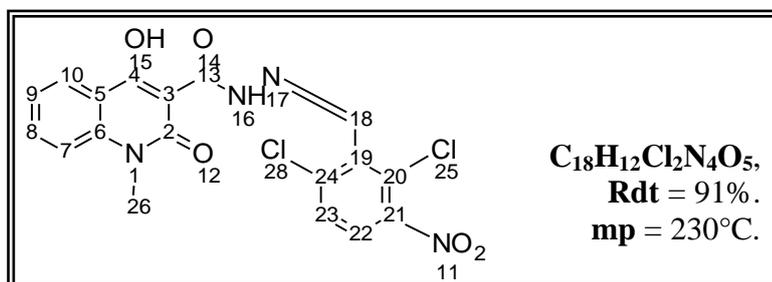
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.92 (s, 1H, NH), 11.80 (s, 1H, NH), 8.60 (s, 1H, H17), 8.16 (d, J = 8.5Hz, 1H, H21), 8.01 (d, J = 8.1Hz, 1H, H22), 7.88 (d, J = 8.7Hz, 1H, H7), 7.66 (m, 1H, H9), 7.35 (m, 1H, H10), 7.26 (m, 1H, H8).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  174.45 (CO), 168.03 (CO), 163.44 (COH), 148.22 (CNO<sub>2</sub>), 143.63 (CCl), 139.34 (CH, C17), 137.93 (C, C6), 133.91 (CCl), 133.61 (C, C18), 130.27 (2xCH, C8, C21), 126.35 (CH, C22), 126.27 (C, C5), 124.86 (CH, C9), 122.43 (CH, C10), 116.13 (CH, C7), 96.50 (C, C3).

**Calc** = C(48.48%) H(2.39%) Cl(16.83%) N(13.30%) O(18.99%).

**Exp** = C(48.44%) H(2.37%) Cl(16.86%) N(13.25%) O(19.08%).

**N'-[(1E)-(2,6-dichloro-3-nitrophenyl)methylene]-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F16): [155]**



Selon le mode opératoire B de l'addition nucléophile, le 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (0.30g, 1.28mmol), le 2,6-dichloro-3-nitro-benzaldéhyde (0.78g, 3.55mmol) sont mis en solution dans le AcOH (20mL). Après 1h de reflux, le N'-[(1E)-(2,6-dichloro-3-nitrophenyl)methylene]-4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3058, 1635, 1577, 1558, 1519cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.66 (s, 1H, H18), 8.15 (d, J = 7.2Hz, 2H, H22, H23), 7.87 (d, J = 8.7Hz, 1H, H10), 7.79 (m, 1H, H9), 7.60 (m, 1H, H7), 7.36 (m, 1H, H8), 3.64 (s, 3H, H26).

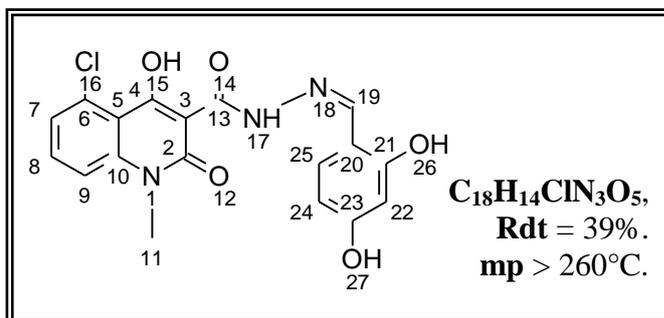
**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  148.19 (C), 137.92 (C), 135.01 (C), 130.34 (CH), 126.60 (CH), 125.12 (CH), 123.08 (CH), 115.89 (CH), 29.60 (CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(49.67%) H(2.78%) Cl(16.29%) N(12.87%) O(18.38%).

**Exp** = C(49.71%) H(2.76%) Cl(16.31%) N(12.82%) O(18.40%).



**5-chloro-N'-[(Z)-(2,4-dihydroxyphenyl)methylidene]-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (F17b): [155]**



Selon le mode opératoire A de l'addition nucléophile, le 5-chloro-4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide (40 mg, 0.15 mmol), le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde (20 mg, 0.14 mmol) sont mis en solution dans le DMSO (5mL) et quelques gouttes d'acide O-phosphorique sont additionnées. Après 1h de reflux et ajout d'eau, le 5-chloro-N'-[(1E)-(2,4-dihydroxyphenyl)méthylène]-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazide est récupéré par filtration.

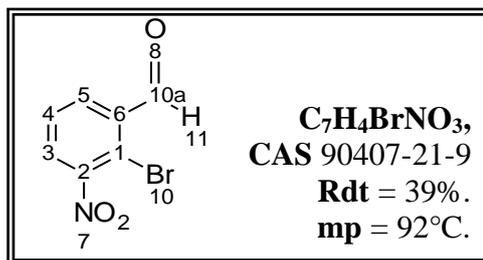
**IR** (KBr)  $\nu$  1610, 1558  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  17.74 (s, 1H, OH), 13.34 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, OH), 10.09 (s, 1H, OH), 8.61 (s, 1H, H19), 7.73 (d, J = 6.9Hz, 1H, H25), 7.65 (d, J = 7.8Hz, 1H, H9), 7.45 (d, J = 5.4Hz, 1H, H24), 7.37 (d, J = 8.1Hz, 1H, H8), 6.38 (d, J = 8.7Hz, 1H, H7), 6.34 (s, 1H, H22), 3.67 (s, 3H, H11).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  173.48 (CO), 167.29 (CO), 161.82 (COH), 160.04 (COH), 152.45 (CH, C19), 132.61 (C, C5), 134.33 (C, C6), 132.79 (C, C20), 131.84 (CH, C25), 126.71 (2xCH, C7, C9), 121.30 (COH), 115.54 (CH, C8), 110.63 (CH, C24), 108.39 (C, C5), 102.94 (CH, C22), 30.51 (CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(55.75%) H(3.64%) Cl(9.14%) N(10.84%) O(20.63%).

**Exp** = C(55.81%) H(3.57%) Cl(9.21%) N(10.84%) O(20.66%).

**2-bromo-3-nitrobenzaldéhyde (13) :** [47]

Dans un bécher sont placés le CrO<sub>3</sub> (1.86g, 18.7mmol) et 30mL d'anhydride acétique. La solution est mise sous agitation jusqu'à dissolution totale.

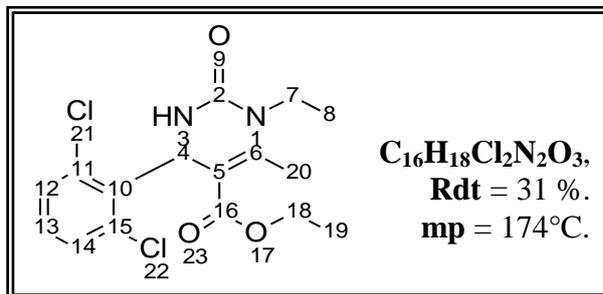
Le 2-bromo-3-nitrotoluène (1.5g, 6.94mmol) est mis en solution dans l'anhydride acétique (12mL). L'addition de l'acide sulfurique (12mL) se fait goutte à goutte dans un bain de glace. A cette solution, est ajouté goutte à goutte la solution de chrome. Une fois le chrome ajouté la solution est agitée à température ambiante pendant 3h. Le mélange réactionnel est neutralisé avec des glaçons. Le produit est récupéré après filtration, celui-ci sera utilisé sans purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  1697, 1539, 1519 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  14.24 (s, 1H, CHO), 8.26 (d, J = 7.8Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.07 (d, J = 7.8Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.79 (t, J = 8.1Hz, 1H, H<sub>4</sub>).

**Calc** = C(36.55%) H(1.75%) Br(34.74%) N(6.09%) O(20.87%).

**Exp** = C(36.60%) H(1.74%) Br(34.81%) N(6.04%) O(20.81%).

**Ethyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1-ethyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15a) : [47]**

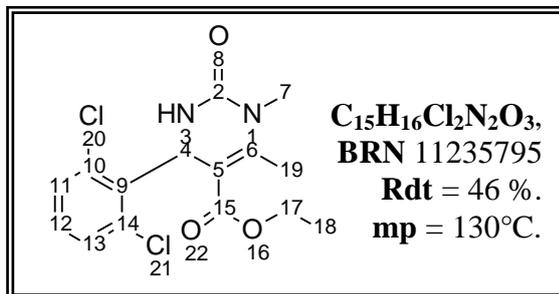
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2,6-dichlorobenzaldéhyde (3g, 17.3mmol), l'éthylurée (2.8g, 31.8mmol), l'acétoacétate d'éthyle (3.4g, 25.8mmol), l'acide borique (1.6g, 25mmol) et 50g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3352, 1700, 1681  $cm^{-1}$ .

**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  7.77 (s, 1H, NH), 7.41 (d,  $J = 7.7Hz$ , 2H, HH12, H14), 7.28 (t,  $J = 8.0Hz$ , 1H, H13), 6.15 (s, 1H, H4), 3.78 (m, 4H, H7, H18), 2.44 (s, 3H, H20), 2.19 (t,  $J = 6.8Hz$ , 3H, H19), 1.78 (t,  $J = 7.2Hz$ , 3H, H8),.

**Calc** = C(53.79%) H(5.08%) Cl(19.85%) N(7.84%) O(13.44%).

**Exp** = C(53.75%) H(5.07%) Cl(19.81%) N(7.86%) O(13.51%).

**Ethyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1,6-dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15b) : [47]**

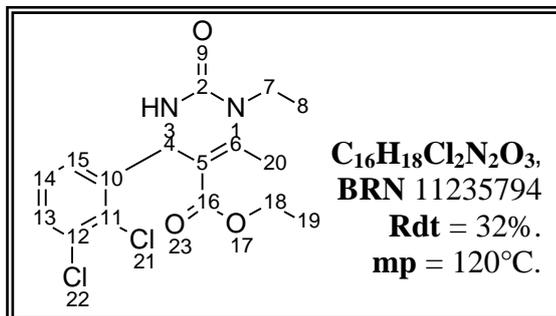
Selon la procédure générale de la Biginelli, le 2,6-dichlorobenzaldéhyde (3g, 17.1mmol), la méthylurée (2.29g, 30,9mmol), l'acétoacétate d'éthyle (3.37g, 25.9mmol), l'acide borique (1.64g, 26.5mmol) et 50g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3322, 1683, 1630  $cm^{-1}$ .

**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  7.8 (s, 1H, NH), 7.4 (m, 3H, H11, H12, H13), 6.2 (d, J = 3Hz, 1H, H4), 3.9 (q, J = 4.3Hz, 2H, H17), 3.2 (s, 3H, H7), 2.4 (s, 3H, H19), 0.9 (t, J = 6.9, 3H, H18).

**Calc** = C(52.49%) H(4.70%) Cl(20.66%) N(8.16%) O(13.99%).

**Exp** = C(52.34%) H(4.74%) Cl(20.48%) N(8.22%) O(14.22%).

**Ethyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1-ethyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15c) : [47]**

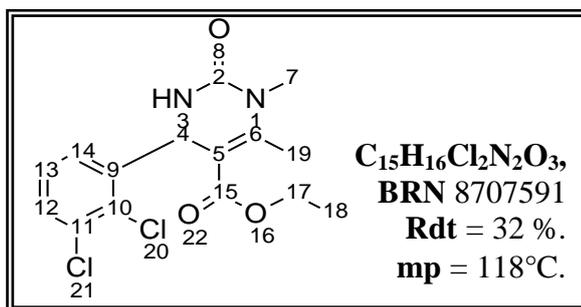
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2,3-dichlorobenzaldéhyde (3g, 17.3mmol), l'éthylurée (3g, 34,5mmol), l'acétoacétate d'éthyle (3.4g, 25.8mmol), l'acide borique (1.66g, 26.8mmol) et 50g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3213, 1708, 1678  $\text{cm}^{-1}$ .

**$^1\text{H}$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  7.91 (s, 1H, NH), 7.49 (d,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 1H, H13), 7.28 (t,  $J = 7.2\text{Hz}$ , 1H, H14), 7.19 (d,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 1H, H15), 5.59 (s, 1H, H4), 3.71 (m, 4H, H7, H18), 2.43 (s, 3H, H20), 0.98 (t, 3H, H19), 0.91 (t, 3H, H8).

**Calc** = C(53.79%) H(5.08%) Cl(19.85%) N(7.84%) O(13.44%).

**Exp** = C(53.85%) H(5.07%) Cl(19.81%) N(7.82%) O(13.45%).

**Ethyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1,6-dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15d) :** [47]

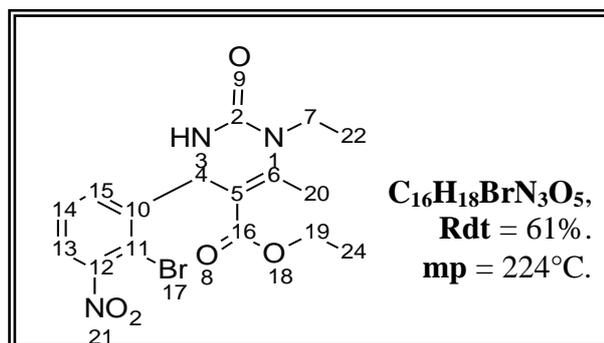
Selon la procédure générale de la Biginelli, le 2,3-dichlorobenzaldéhyde (3.03g, 17.3mmol), la méthylurée (2.29g, 31.0mmol) et l'acide borique (1.59g, 25.6mmol) sont solubilisés dans un mélange d'acétoacétate d'éthyle (3.43g, 26.4mmol) et 50g d'acide acétique conduisent au produit. Aucune autre purification n'est effectuée.

**IR** (KBr)  $\nu$  3350, 1672, 1621  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.9 (s, 1H, NH), 7.6 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 1H, H12), 7.35 (m, 2H, H13, H14), 5.6 (d,  $J = 3\text{Hz}$ , 1H, H4), 3.9 (q,  $J = 6.6\text{Hz}$ , 2H, H17), 3.8 (m, 3H, H7), 2.5 (s, 3H, H19), 1.2 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H, H18).

**Calc** = C(52.49%) H(4.70%) Cl(20.66%) N(8.16%) O(13.99%).

**Exp** = C(52.37%) H(4.73%) Cl(20.69%) N(8.19%) O(14.02%).

**Ethyl 4-(2-bromo-3-nitrophenyl)-1-ethyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15e) : [47]**

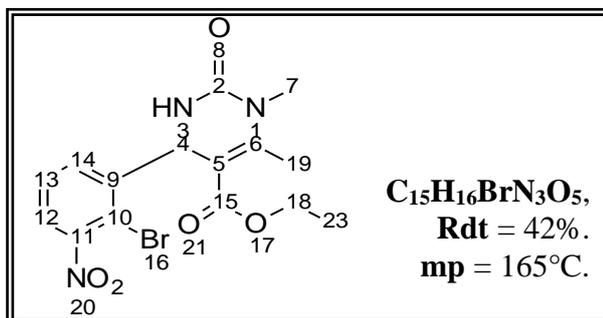
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2-bromo-3-nitrobenzaldéhyde (1g, 4.34mmol), l'éthylurée (0.61g, 6.93mmol), l'acétoacétate d'éthyle (0.76g, 5.85mmol), l'acide borique (0.20g, 3.28mmol) et 25g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3228, 1708, 1674, 1624, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.12 (s, 1H, NH), 7.89 (d, J = 6.8Hz 1H, H13), 7.6 (m, 2H, H14, H15), 5.75 (s, 1H, H4), 3.97-3.79 (m, 4H, H19, H7), 2.63 (s, 3H, H20), 1.19 (t, J = 6.7Hz, 3H, H24), 1.03 (t, J = 6.6Hz, 3H, H22)

**Calc** = C(46.62%) H(4.40%) Br(19.38%) N(10.19%) O(19.41%).

**Exp** = C(46.67%) H(4.38%) Br(19.35%) N(10.17%) O(19.43%).

**Ethyl 4-(2-bromo-3-nitrophenyl)-1,6-dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15f) :** [47]

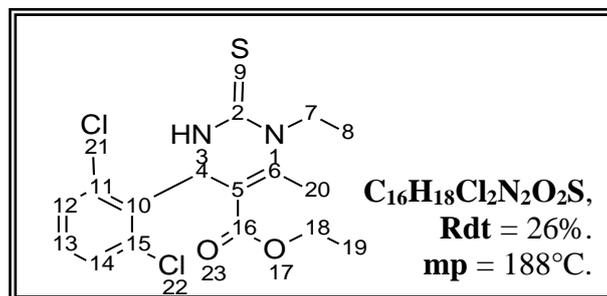
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2-bromo-3-nitrobenzaldéhyde (1g, 4.34mmol), la méthylurée (0.39g, 4.38mmol), l'acétoacétate d'éthyle (0.57g, 5.26mmol), l'acide borique (0.20g, 3.28mmol) et 25g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3217, 1708, 1681, 1635, 1542cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.11 (d, J = 2.7Hz, 1H, H12), 7.84 (dd, J = 6.6, 2.7 Hz, 1H, H14), 7.60 (t, J = 5.4Hz, 2H, H13), 5.71 (s, 1H, H4), 3.93 (q, J = 7.2Hz, 2H, H18), 3.18 (s, 3H, H7), 2.57 (s, 3H, H19), 0.99 (t, J = 7.2Hz, 3H, H23).

**Calc** = C(45.24%) H(4.05%) Br(20.07%) N(10.55%) O(20.09%).

**Exp** = C(45.21%) H(4.07%) Br(20.12%) N(10.51%) O(20.09%).

**Ethyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1-ethyl-6-methyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15g) : [47]**

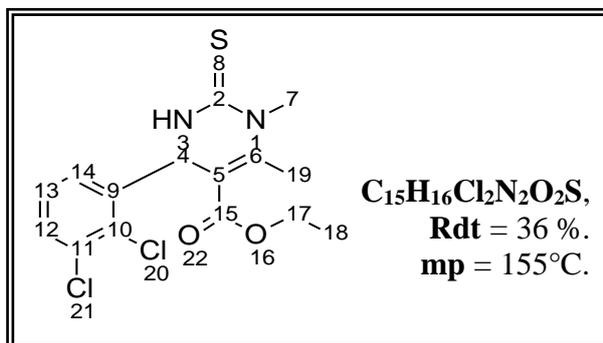
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2,6-dichlorobenzaldéhyde (3.0g, 17.1mmol), l'éthylthiourée (3.20g, 30.7mmol), l'acétoacétate d'éthyle (3.36g, 26.0mmol), l'acide borique (1.59g, 25.6mmol) et 49g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3186, 3051, 1761, 1639, 1546cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.45 (s, 1H, H12), 7.43 (s, 1H, H14), 7.31 (t, J = 7.2Hz, 1H, H13), 6.13 (s, 1H, H4), 4.65-4.30 (m, 2H, H18), 3.89 (q, J = 6.9Hz, 2H, H7), 2.46 (s, 3H, H20), 1.21 (t, J = 6.9Hz, 3H, H19), 0.92 (t, J = 7.2Hz, 3H, H8).

**Calc** = C(51.48%) H(4.86%) Cl(18.99%) N(7.50%) O(8.57%) S(8.59%).

**Exp** = C(51.42%) H(4.87%) Cl(18.92%) N(7.56%) O(8.61%) S(8.61%).

**Ethyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1,6-dimethyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (15h) : [47]**

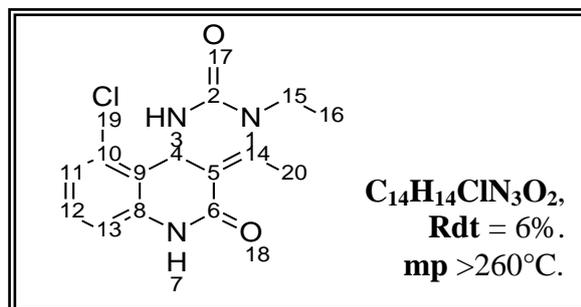
Selon la procédure générale de la Biginelli, sont introduit, le 2,3-dichlorobenzaldéhyde (3.03g, 17.3mmol), la méthylthiourée (2.83g, 31.4mmol), l'acétoacétate d'éthyle (3.33g, 25.6mmol), l'acide borique (1.61g, 26.0mmol) et 51g d'acide acétique. Le solide obtenu est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3201, 1708, 1651, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.83 (d, J = 4.0Hz, 1H, NH), 7.59 (d, J = 7.5Hz, 1H, H12), 7.34 (t, J = 7.9Hz, 1H, H13), 7.26 (d, J = 7.5Hz, 1H, H14), 5.67 (d, J = 4.0Hz, 1H, H4), 3.99 (q, J = 7.0Hz, 2H, H17), 3.55 (s, 3H, H7), 2.57 (s, 3H, H19), 1.04 (t, J = 7.0Hz, 3H, H18).

**Calc** = C(50.15%) H(4.49%) Cl(19.74%) N(7.80%) O(8.91%) S(8.93%).

**Exp** = C(50.10%) H(4.52%) Cl(19.71%) N(7.84%) O(8.95%) S(8.88%).

**10-chloro-3-ethyl-4-methyl-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione****(F18) :** [47]

Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1-éthyl-6-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (1.01g, 2.83mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (150mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3201, 3066, 1674, 1647, 1562, 1473cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.91 (s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, NH), 7.38 (d, J = 8.1Hz, 1H, H11), 7.27 (m, 2H, H12, H13), 6.11 (s, 1H, H4), 3.73 (m, 2H, H15), 2.42 (s, 3H, H20), 1.08 (t, J = 6.9Hz, 3H, H16).

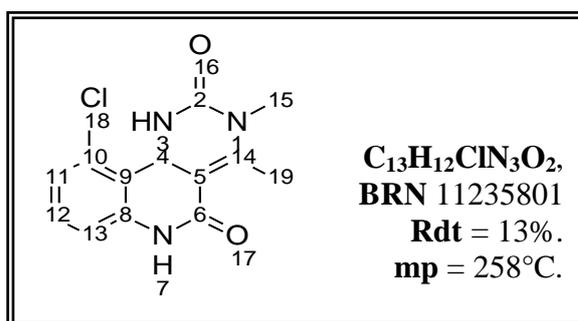
**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  167.54 (CO), 149.76 (CO), 137.87 (C, C14), 137.32 (C, C9), 135.93 (C, C8), 135.61 (C, C10), 131.28 (CH, C12), 129.66 (CH, C11), 129.46 (CH, C13), 128.53 (C, C5), 52.92 (CH, C4), 52.06 (CH<sub>2</sub>, C15), 37.19 (CH<sub>3</sub>, C20), 15.93 (CH<sub>3</sub>, C16).

**Calc** = C(57.64%) H(4.84%) Cl(12.15%) N(14.40%) O(10.97%).

**Exp** = C(57.70%) H(4.81%) Cl(12.21%) N(14.34%) O(10.94%).

**10-chloro-3,4-dimethyl-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione (F19):**

[47]



Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1,6-diméthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (2.5g, 7.18mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (140mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3005, 1660, 1619cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.60 (s, 1H, NH), 7.72 (s, 1H, NH), 7.58 (s, 1H, H11), 7.41 (s, 1H, H13), 7.16 (s, 1H, H12), 6.12 (d, J = 3.2Hz, 1H, H4), 3.38 (s, 3H, H15), 2.50 (s, 3H, H19).

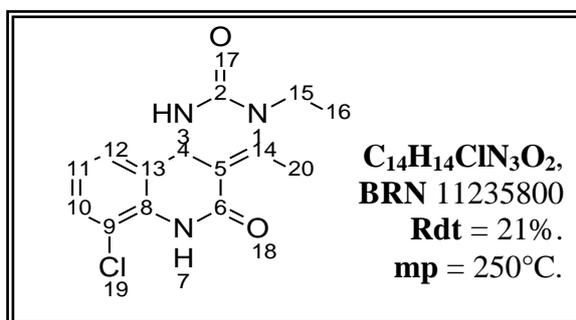
**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  . 167.46 (CO), 151.75 (CO), 150.75 (C, C14), 137.98 (C, C9), 135.63 (C, C8), 129.69 (C, C10) 129.67 (3CH, C11, C12, C13), 98.07 (C, C5), 51.97 (CH, C4), 29.57 (CH<sub>3</sub>, C15), 16.65 (CH<sub>3</sub>, C19).

**Calc** = C(56.22%) H(4.36%) Cl(12.77%) N(15.13%) O(11.52%).

**Exp** = C(56.25%) H(4.30%) Cl(12.65%) N(15.22%) O(11.58%).

**7-chloro-3-ethyl-4-methyl-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione (F20) :**

[47]



Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1-éthyl-6-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (2.5g, 7.00mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (140mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  2998, 1671, 1618cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.90 (s, 1H, NH), 7.80 (s, 1H, NH), 7.63 (m, 1H, H11), 7.32 (m, 1H, H12), 7.21 (m, 1H, H13), 5.53 (d, J = 3.3Hz, 1H, H4), 3.74 (q, J = 7.13Hz, 2H, H15), 2.50 (s, 3H, H20), 1.01 (t, J = 6.8Hz, 3H, H16).

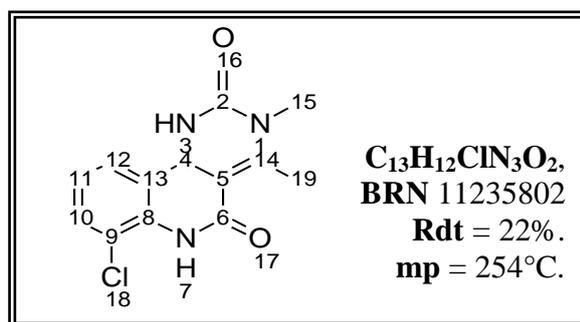
**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  167.26 (CO), 152.13 (CO), 150.54 (C, C14), 143.66 (C, C13), 137.71 (C, C8), 132.29 (C, C9), 129.98 (CH, C10), 128.87 (CH, C11), 127.16 (CH, C12), 101.99 (C, C5), 51.54 (CH, C4), 37.28 (CH<sub>2</sub>, C15), 15.68 (CH<sub>3</sub>, C20), 15.18 (CH<sub>3</sub>, C16).

**Calc** = C(57.64%) H(4.84%) Cl(12.15%) N(14.40%) O(10.97%).

**Exp** = C(57.42%) H(4.88%) Cl(12.10%) N(14.51%) O(11.09%).

**7-chloro-3,4-dimethyl-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione (F21):**

[47]



Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1,6-diméthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (2.5g, 7.28mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (140mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  2990, 1673, 1622cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.90 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, NH), 7.57 (m, 1H, H11), 7.43 (m, 1H, H12), 7.20 (m, 1H, H13) 5.60 (s, 1H, H4), 3.14 (s, 3H, H15), 2.56 (s, 3H, H19).

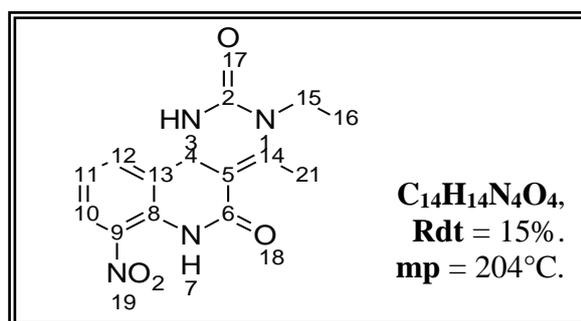
**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  167.31 (CO), 152.71 (CO), 151.74 (C, C14), 143.57 (C, C13), 139.83 (C, C8), 132.14 (C, C9), 129.99 (CH, C10), 128.94 (CH, C11), 127.22 (CH, C12), 101.91 (C, C5), 51.41 (CH, C4), 29.99 (CH<sub>3</sub>, C15), 16.31 (CH<sub>3</sub>, C19).

**Calc** = C(56.22%) H(4.36%) Cl(12.77%) N(15.13%) O(11.52%).

**Exp** = C(56.16%) H(4.39%) Cl(12.70%) N(15.24%) O(11.51%).

**3-ethyl-4-methyl-7-nitro-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione (F22) :**

[47]



Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2-bromo-3-nitrophenyl)-1-éthyl-6-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (0.80g, 1.94mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (90mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

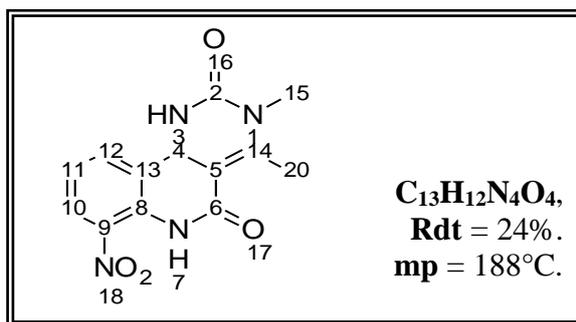
**IR** (KBr)  $\nu$  3227, 1678, 1624, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.17 (s, 1H, NH), 7.95 (s, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H10), 7.56 (d, J = 17.6Hz, 2H, H11, H12), 5.63 (s, 1H, H4), 3.72 (m, 2H, H15), 2.58 (s, 3H, H21), 1.12 (s, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  173.04 (CO), 167.39 (CO), 161.43 (C, C14), 146.96 (C, C13), 143.04 (C, C8), 140.87 (C, C9), 133.16 (CH, C10), 130.86 (CH, C11), 130.52 (CH, C12), 122.67 (C, C5), 52.44 (CH<sub>3</sub>, C4), 35.30 (CH<sub>2</sub>, C15), 15.81 (CH<sub>3</sub>, C21), 15.11 (CH<sub>3</sub>, C16).

**Calc** = C(55.63%) H(4.67%) N(18.53%) O(21.17%).

**Exp** = C(55.60%) H(4.68%) N(18.51%) O(21.21%).

**3,4-dimethyl-7-nitro-4,6-dihydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5(1H,3H)-dione (F23) : [47]**

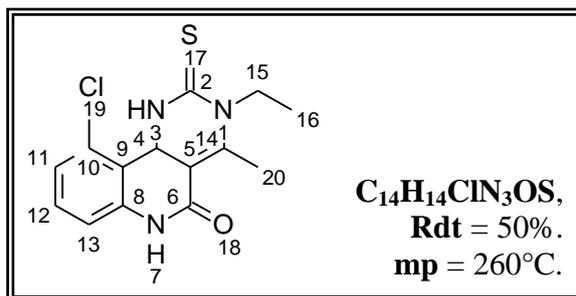
Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2-bromo-3-nitrophenyl)-1,6-diméthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (0.46g, 2.83mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (90mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3359, 1678, 1634, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.25 (s, 1H, NH), 8.12 (d, J = 3.3Hz, 1H, NH), 7.95 (t, J = 4.35Hz, 1H, H11), 7.68 (d, J = 4.99Hz, 2H, H10, H12), 5.75 (d, J = 2.94Hz, 1H, H4), 3.25 (s, 3H, H15), 2.67 (s, 3H, H20).

**Calc** = C(54.17%) H(4.20%) N(19.44%) O(22.20%).

**Exp** = C(54.06%) H(4.22%) N(19.49%) O(22.23%).

**10-chloro-3-ethyl-4-methyl-2-thioxo-2,3,6,10b-tetrahydropyrimido[5,4-c]quinolin-5(1H)-one (F24) : [47]**

Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,6-dichlorophenyl)-1-éthyl-6-méthyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (1.25g, 3.35mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (100mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

**IR** (KBr)  $\nu$  3192, 2939, 1685, 1616, 1562cm<sup>-1</sup>.

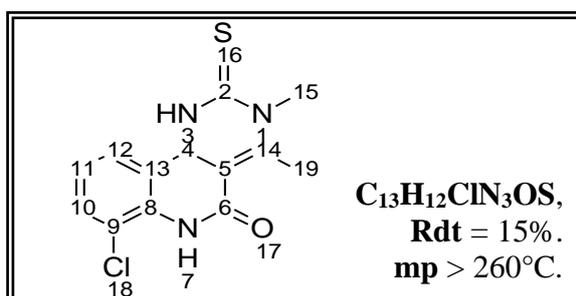
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.41 (s, 1H, NH), 7.42 (m, 3H, NH, H11, H12), 7.31 (d, J = 7.2Hz, 1H, H13), 6.12 (s, 1H, H4), 4.47-4.20 (m, 2H, H15), 2.45 (s, 3H, H20), 1.20 (t, J = 6.6Hz, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  176.62 (CS), 167.38 (CO), 145.76 (C, C14), 136.54 (C, C9), 136.05 (C, C8), 130.17 (CH+C, C10, C11), 129.67 (2CH, C12, C13), 102.24 (C, C5), 51.79 (CH, H4), 42.74 (CH<sub>2</sub>, H15), 16.34 (CH<sub>3</sub>, H20), 15.29 (CH<sub>3</sub>, C16).

**Calc** = C(54.63%) H(4.58%) Cl(11.52%) N(13.65%) O(5.20%) S(10.42%).

**Exp** = C(54.21%) H(4.15%) Cl(6.11%) N(11.87%) O(19.14%) S(5.52%).

**7-chloro-3,4-dimethyl-2-thioxo-2,3,4,6-tetrahydropyrimido[5,4-c]quinolin-5(1H)-one**  
**(F25) : [47]**



Selon le mode opératoire de la cyclisation, l'éthyl 4-(2,3-dichlorophenyl)-1,6-diméthyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (1g, 2.78mmol) est mis en solution dans une solution d'ammoniaque 28% (60mL) puis chauffé 20h à 200°C (10bars). Une fois la solution neutralisée avec HCl concentré, le solide est filtré et utilisé sans autre purification.

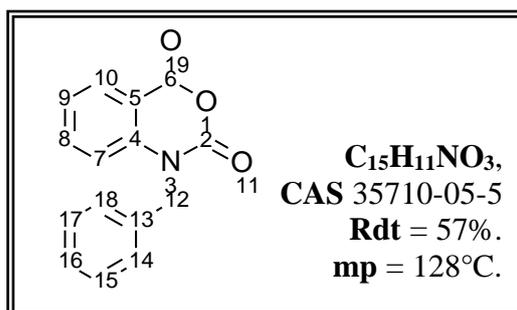
**IR** (KBr)  $\nu$  3132, 2935, 1635, 1400cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.74 (s, 1H, NH), 7.59 (d, J = 7.9Hz, 1H, NH), 7.33 (m, 3H, H10, H11, H12), 5.63 (d, J = 4.5Hz, 1H, H4), 3.51 (s, 3H, H19), 2.59 (s, 3H, H15).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  178.09 (CO), 166.81 (CS), 148.77 (C, C14), 141.47 (C, C13), 132.50 (C, C8), 131.56 (C, C9), 130.44 (CH, C10), 128.95 (CH, C11), 127.48 (CH, C12), 105.18 (C, C5), 51.25 (CH, C4), 36.50 (CH<sub>3</sub>, C15), 16.50 (CH<sub>3</sub>, C19).

**Calc** = C(53.15%) H(4.12%) Cl(12.07%) N(14.30%) O(5.45%) S(10.91%).

**Exp** = C(53.19%) H(4.11%) Cl(12.13%) N(14.15%) O(5.56%) S(10.86%).

**1-benzyl-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (16a) : [109]**

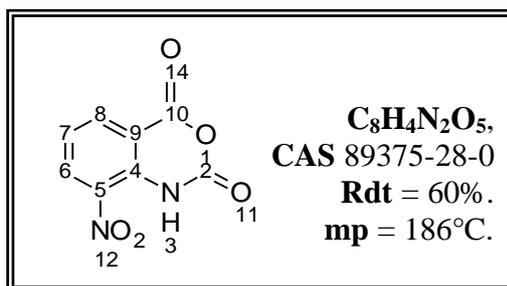
Selon la procédure de N-benzilation, l'anhydride isatoïque (1g, 6.13mmol) est mis en solution dans le DMA (5mL) puis est ajouté le DIPEA (2mL). La solution est agité 10min puis le bromure de benzyle (800 $\mu$ L) est introduit. Le mélange réactionnel est chauffé à 80°C pendant 3h. La solution est ensuite laissée revenir à température ambiante. On additionne 10mL d'eau, la suspension obtenue est agitée vigoureusement pendant 30min, filtrée puis lavée à l'eau et à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1774, 1720, 1608cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.17 (d, J = 7.8Hz, 1H, H10), 7.64 (t, J = 7.8Hz, 1H, H9), 7.30 (m, 5H, H14, H15, H16, H17, H18), 7.12 (d, J = 8.4Hz, 1H, H7), 5.31 (s, 2H, H12).

**Calc** = C(71.14%) H(4.38%) N(5.53%) O(18.95%).

**Exp** = C(71.11%) H(4.40%) N(5.49%).

**8-nitro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (16b) : [163]**

A 15 mL de toluène anhydre (distillation réalisée sur sodium et benzophénone), on ajoute l'anhydride nitrophallique (1g 5.18mmol) et l'azidotriméthylsilane (0.76g, 4.84mmol). L'ensemble est porté à reflux pendant une nuit. Le mélange réactionnel est par la suite évaporé à sec et recristallisé dans l'éthanol. Le produit est ensuite utilisé tel quel pour la suite des réactions.

**IR** (KBr)  $\nu$  2877, 1651, 1608, 1581, 1535cm<sup>-1</sup>.

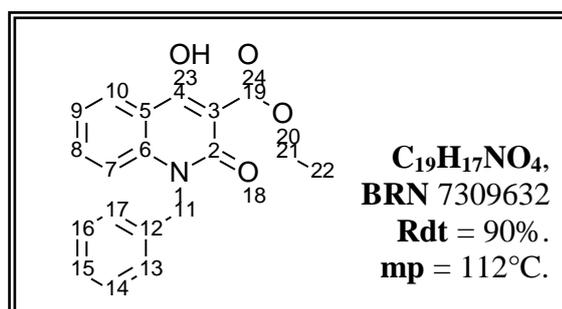
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.60 (t, J = 71.6Hz, 1H, NH), 8.47 (dd, J = 8.1-1.3Hz, 1H, H6), 8.33 (dd, J = 7.8-1.5Hz, 1H, H8), 7.40 (t, J = 4.35Hz, 1H, H7).

**Calc** = C(46.17%) H(1.94%) N(13.46%) O(38.44%).

**Exp** = C(46.20%) H(1.95%) N(13.41%).

**Ethyl 1-benzyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (17Ia):**

[153](adaptée)



Selon la procédure D de l'estérification, le 1-benzyl-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (0.5g, 1.97mmol) est solubilisé dans 5mL de DMA. En parallèle est préparé une solution contenant le diéthylmalonate (1.5mL) et le NaOtBu (1.17g, 12.2mmol) dans 5mL de DMA. Cette solution est additionnée à la précédente. Le mélange réactionnel est chauffé à 95°C pendant 1h. Après retour à température ambiante, on ajoute 20mL d'HCl 2N, puis la solution est agitée vigoureusement pendant 1h. Le solide obtenu est ensuite lavé à l'eau et à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1668, 1621, 1560  $\text{cm}^{-1}$ .

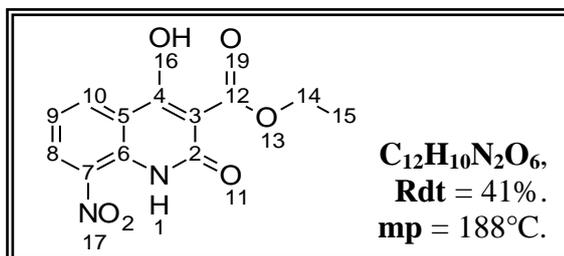
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  13.19 (s, 1H, OH), 8.10 (d, *J* = 7.8Hz, 1H, H10), 7.63 (t, *J* = 7.2Hz, 1H, H9), 7.28 (m, 7H, H7, H8, H13, H14, H15, H16, H17), 5.47 (s, 2H, H11), 4.38 (q, *J* = 7.2Hz, 2H, H21), 1.32 (t, *J* = 7.2Hz, 3H, H22).

**Calc** = C(70.58%) H(5.30%) N(4.33%) O(19.79%).

**Exp** = C(70.55%) H(5.32%) N(4.35%).

**Ethyl 4-hydroxy-8-nitro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (17Ia) : [153]**

(adaptée)



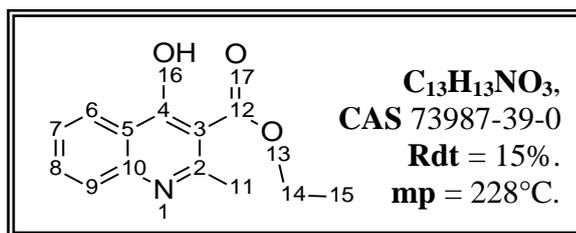
Selon le mode opératoire B de l'estérification, le 8-nitro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (0.20g, 0.96mmol) est solubilisé à froid dans le DMF (10mL). L'hydrure de sodium (0.10g, 4.17mmol) et le malonate de diéthyle (0.79g, 4.94mmol) sont additionnés par petites portions. Une fois le mélange limpide, le ballon est chauffé (85°C) pendant 5h. Une fois l'eau ajoutée, le produit est récupéré par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3352, 3255, 1685, 1635, 1589cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  10.67 (s, 1H, OH), 8.53 (d, J = 7.9Hz, 1H, H10), 8.40 (d, J = 7.6Hz, 1H, H8), 7.42 (t, J = 7.9Hz, 1H, H9), 4.34 (q, J = 7.0Hz, 2H, H14), 3.5 (m, 1H, NH), 1.31 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Calc** = C(51.80%) H(3.62%) N(10.07%) O(34.50%).

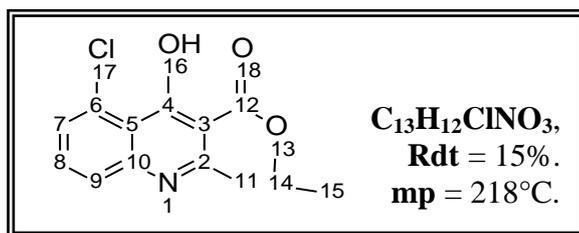
**Exp** = C(51.75%) H(3.64%) N(10.12%).

**Ethyl 4-hydroxy-2-methylquinoline-3-carboxylate (17Ib) :** [153]

Selon le mode opératoire C de l'estérification, l'hydruure de sodium (0.98g, 40.8mmol), l'acétoacétate d'éthyle (20mL, 158,1mmol) et l'anhydride isoatoïque (2.99g, 18.34mmol) sont en solution dans le DMA (120mL). La solution est chauffé 10min puis après ajout de l'eau et le passage au bain à ultrason la méthylquinoléine est récupérée.

**IR** (KBr)  $\nu$  3282, 3224, 3163, 3058, 1701, 1635, 1554, 1515cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.88 (s, 1H, OH), 8.05 (d, J = 8.1Hz, 1H, H6), 7.66 (t, J = 6.9Hz, 1H, H7), 7.53 (d, J = 8.1Hz, 1H, H9), 7.34 (t, J = 7.5Hz, 1H, H8), 4.24 (q, J = 6.9Hz, 2H, H14), 2.39 (s, 3H, H11), 1.27 (t J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Ethyl 5-chloro-4-hydroxy-2-methylquinoline-3-carboxylate (17Ib) : [153](adaptée)**

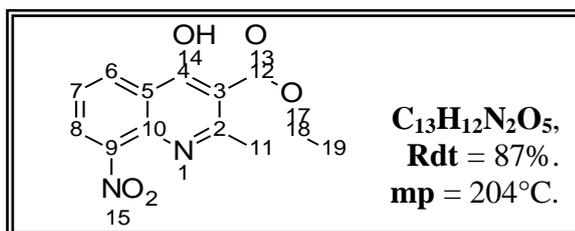
Selon le mode opératoire C de l'estérification, l'hydruure de sodium (0.22g, 9.17mmol), l'acétoacétate d'éthyle (1.70g, 13.1mmol) et le 5-chloro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (0.5g, 2.53mmol) sont en solution dans le DMA (10mL). La solution est chauffé 10min puis après ajout de l'eau et le passage au bain à ultrason la méthylquinoléine est récupérée.

**IR** (KBr)  $\nu$  3437, 3217, 1708, 1635, 1566, 1512cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.87 (s, 1H, OH), 7.55 (t, J = 4.2Hz, 1H, H8), 7.48 (d, J = 8.4Hz, 1H, H9), 7.30 (d, J = 7.5Hz, 1H, H7), 4.23 (q, J = 6.9Hz, 2H, H13), 2.34 (s, 3H, H11), 1.27 (t, J = 6.9Hz, 3H, H15).

**Calc** = C(58.77%) H(4.55%) Cl(13.34%) N(5.27%) O(18.07%).

**Exp** = C(58.36%) H(5.24%) Cl(13.28%) N(5.19%).

**Ethyl 4-hydroxy-2-methyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (17Ib) :** [153] (*adaptée*)

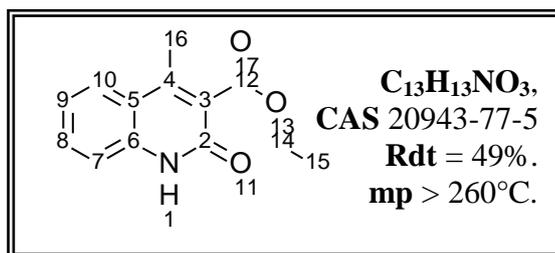
Selon le mode opératoire C de l'estérification, l'hydrure de sodium (0.22g, 9.17mmol), l'acétoacétate d'éthyle (1.56g, 12.0mmol) et le 8-nitro-2H-3,1-benzoxazine-2,4(1H)-dione (0.5g, 2.40mmol) sont en solution dans le DMA (10mL). La solution est chauffée 10min puis après ajout de l'eau et le passage au bain à ultrason la méthylquinoléine est récupérée.

**IR** (KBr)  $\nu$  3321, 1728, 1631, 1591cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.21 (s, 1H, OH), 8.53 (t, J = 3.9Hz, 1H, H9), 8.48 (d, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.48 (t, J = 7.8Hz, 1H, H8), 4.27 (q, J = 6.9Hz, 2H, H14), 3.30 (s, 3H, H11), 1.28 (t, J = 7.2Hz, 3H, H19).

**Calc** = C(56.52%) H(4.38%) N(10.14%) O(28.96%).

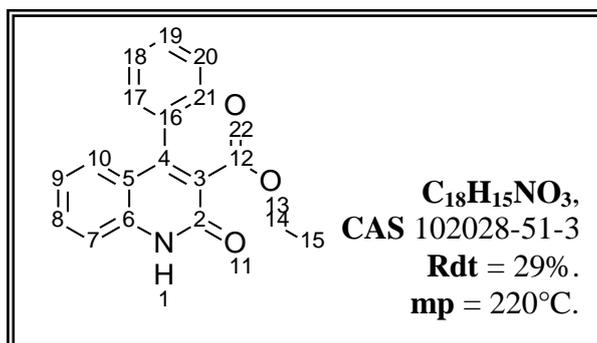
**Exp** = C(56.54%) H(4.36%) N(10.17%).

**Ethyl 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (20a) :** [153] (*adaptée*)

L'acétophénone (2g, 16,8mmol, 1eq) est introduit dans un ballon sec. On ajoute le malonate de diéthyle (3.57mL, 23.4mmol, 1.4eq) et le DBU (700 $\mu$ L, 4.68mmol, 0.28eq). Le mélange est chauffé à 120°C pendant 24h. La solution est lavée avec l'AcOEt, puis avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après évaporation et séchage on récupère l'éthyl 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (1.91g).

**IR** (KBr)  $\nu$  1728, 1650, 1606, 1561, 1504 cm<sup>-1</sup>.

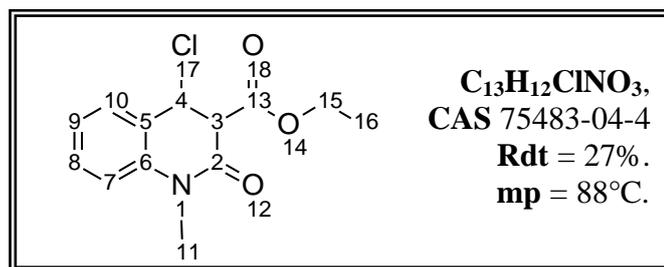
**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.09 (s, 1H, NH), 7.81 (d, J = 7.8Hz, 1H, H10), 7.57 (t, J = 8.1Hz, 1H, H9), 7.33 (d, J = 8.1Hz, 1H, H7), 7.26 (t, J = 7.2Hz, 1H, H8), 4.31 (q, J = 6.9Hz, 2H, H14), 2.40 (s, 3H, H16), 1.30 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Ethyl 2-oxo-4-phenyl-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (20b) :** [153] (*adaptée*)

La benzophénone (2g, 10.2mmol, 1eq) est introduit dans un ballon sec. On ajoute le malonate de diéthyle (4mL, 26.3mmol, 2.5eq) et le DBU (576 $\mu$ L, 3.85mmol, 0.38eq). Le mélange est chauffé à 120°C pendant 24h. On obtient alors l' éthyl 2-oxo-4-phenyl-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate. Ce dernier est recristallisé dans l' AcOEt (873mg)

**IR** (KBr)  $\nu$  1728, 1644, 1607, 1556  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.28 (s, 1H, NH), 7.53 (m, 4H, H7, H8, H9, H10), 7.41 (d, J = 8.4Hz, 1H, H19), 7.33 (m, 2H, H18, H20), 7.13 (m, 2H, H17, H21), 3.94 (q, J = 7.2Hz, 2H, H14), 0.85 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

**Ethyl 4-chloro-1-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (18Ia) : [153]**

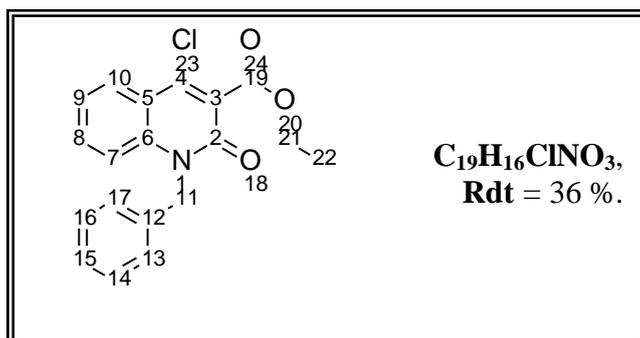
Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 4-hydroxy-1-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (2.30g, 9.31mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (6mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 4-chloro-1-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate par filtration et lavage à l'eau.

**IR** (KBr)  $\nu$  1732, 1651, 1569cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.05 (d, J = 8.4Hz, 1H, H10), 7.82 (d, J = 8.4Hz, 1H, H9), 7.70 (d, J = 8.6Hz, 1H, H7), 7.47 (t, J = 7.9Hz, 1H, H8), 4.36 (q, J = 7.2Hz, 2H, H15), 3.67 (s, 3H, H11), 1.30 (t, J = 7.0Hz, 3H, H16).

**Calc** = C(58.32%) H(5.27%) Cl(13.24%) N(5.23%) O(17.93%).

**Exp** = C(58.74%) H(4.57%) Cl(13.29%) N(5.31%).

**Ethyl 1-benzyl-4-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (18Ia) :** [153]

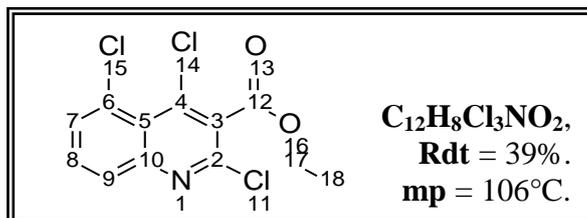
Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 1-benzyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.5g, 1.55mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (6mL). Après 2h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 1-benzyl-4-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate par extraction avec l'acétate d'éthyle.

**IR** (KBr)  $\nu$  2959, 2924, 2854, 1732, 1642, 1568 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.05 (d, J = 9Hz, 1H, H10), 7.88 (t, J = 9Hz, 1H, H9), 7.72 (d, J = 9Hz, 1H, H7), 7.44-7.20 (m, 6H, H8, H13, H14, H15, H16, H17), 5.55 (s, 2H, H11), 4.39 (q, J = 6Hz, 2H, H21), 1.38 (t, J = 6Hz, 3H, H22).

**Calc** = C(66.77%) H(4.72%) Cl(10.37%) N(4.10%) O(14.04%).

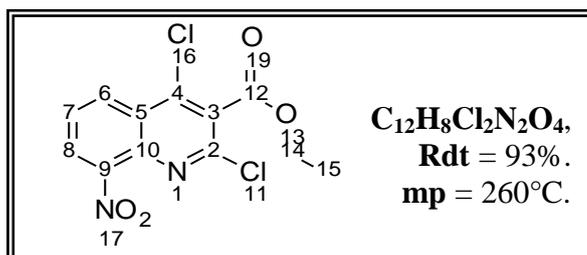
**Exp** = C(66.74%) H(4.75%) Cl(10.32%) N(4.15%).

**Ethyl 2,4,5-trichloroquinoline-3-carboxylate (18Ia) :** [153]

Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 5-chloro-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.75mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (3mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 2,4,5-trichloroquinoline-3-carboxylate par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3409, 3124, 1735, 1573cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.08 (dd, J = 6.3-1.5Hz, 1H, H9), 7.94 (m, 2H, H7, H8), 4.50 (q, J = 7.2Hz, 2H, H16), 1.38 (t, J = 7.2Hz, 3H, H18).

**Ethyl 2,4-dichloro-8-nitroquinoline-3-carboxylate(18Ia) : [153]**

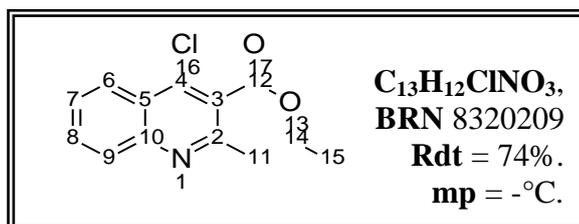
Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 4-hydroxy-8-nitro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.05g, 0.18mmol) est mis en solution dans  $POCl_3$  (10mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 2,4-dichloro-8-nitroquinoline-3-carboxylate par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3132, 1732, 1689, 1624, 1535 $cm^{-1}$ .

**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  8.35 (d,  $J = 7.8Hz$ , 1H, H6), 8.27 (d,  $J = 8.1Hz$ , 1H, H8), 7.41 (t,  $J = 8.1Hz$ , 1H, H7), 4.36 (q,  $J = 6.9Hz$ , 2H, H14), 1.31 (t,  $J = 6.9Hz$ , 3H, H15).

**Calc** = C(45.74%) H(2.56%) Cl(22.50%) N(8.89%) O(20.31%).

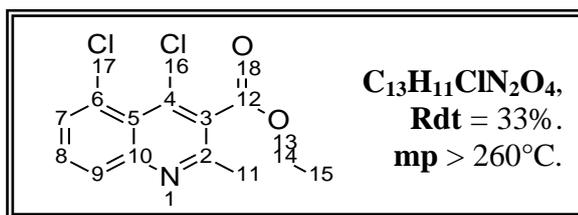
**Exp** = C(45.72%) H(2.57%) Cl(22.53%) N(8.86%).

**Ethyl 4-chloro-2-methylquinoline-3-carboxylate (18Ib) : [153]**

Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 4-hydroxy-2-méthylquinoline-3-carboxylate (0.5g, 2.16mmol) est mis en solution dans  $POCl_3$  (9mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 4-chloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate par extraction et évaporation de l'acétate d'éthyle.

**IR** (KBr)  $\nu$  - $cm^{-1}$ .

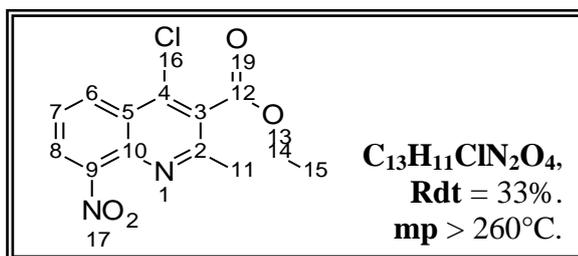
**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  8.19 (d, J = 8.1Hz, 1H, H6), 8.04 (d, J = 8.4Hz, 1H, H9), 7.91 (t, J = 6.9Hz, 1H, H7), 7.77 (t, J = 8.1Hz, 1H, H8), 4.48 (q, J = 7.2Hz, 2H, H14), 2.65 (s, 3H, H11), 1.38 (t, J = 6.9Hz, 3H, H15).

**Ethyl 4,5-dichloro-2-methylquinoline-3-carboxylate (18Ib) : [153]**

Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 5-chloro-4-hydroxy-2-méthylquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.75mmol) est mis en solution dans  $POCl_3$  (5mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 4,5-dichloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  1728, 1595, 1550 $cm^{-1}$ .

**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  8.04 (dd,  $J = 7.2-1.8Hz$ , 1H, H9), 7.83 (m, 2H, H7, H8), 4.48 (q,  $J = 7.2Hz$ , 2H, H14), 2.61 (s, 3H, H11), 1.37 (t,  $J = 7.2Hz$ , 3H, H15).

**Ethyl 4-chloro-2-methyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (18Ib) : [153]**

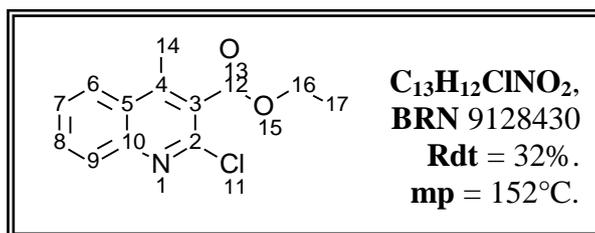
Selon le mode opératoire de la chloration, ethyl 4-hydroxy-2-methyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.72mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (5mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 4-chloro-2-methyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate par filtration.

**IR** (KBr)  $\nu$  3450, 2923, 1735, 1535cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.49 (d, J = 7.8Hz, 1H, H6), 8.44 (d, J = 7.5Hz, 1H, H8), 7.93 (t, J = 8.1Hz, 1H, H7), 4.51 (q, J = 6.9Hz, 2H, H14), 2.66 (s, 3H, H11), 1.38 (t, J = 7.2Hz, 3H, H15).

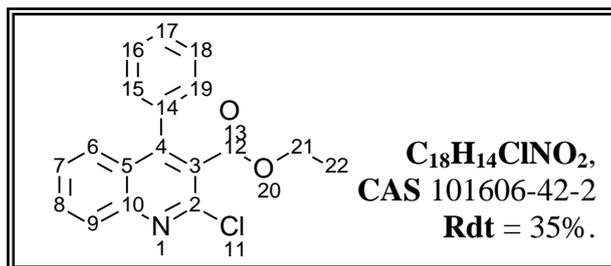
**Calc** = C(52.98%) H(3.76%) Cl(12.03%) N(9.51%) O(21.72%).

**Exp** = C(52.95%) H(3.78%) Cl(12.01%) N(9.55%).

**Ethyl 2-chloro-4-méthylquinoline-3-carboxylate (21a) : [153]**

Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 4-méthyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.86mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (5mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 2-chloro-4-méthylquinoline-3-carboxylate par filtration.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz) δ 8.23 (d, J = 8.4Hz, 1H, H6), 8.00 (d, J = 8.1Hz, 1H, H9), 7.91 (t, J = 6.9Hz, 1H, H7), 7.76 (t, J = 7.2Hz, 1H, H8), 4.46 (q, J = 6.9Hz, 2H, H16), 2.68 (s, 3H, H14), 1.36 (t, J = 6.9Hz, 3H, H17).

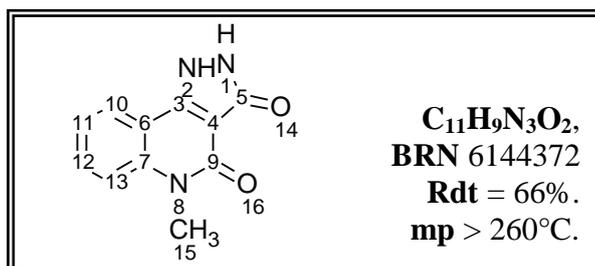
**Ethyl 2-chloro-4-phenylquinoline-3-carboxylate (21b) : [153]**

Selon le mode opératoire de la chloration, l'éthyl 2-oxo-4-phényl-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.68mmol) est mis en solution dans POCl<sub>3</sub> (5mL). Après 1h de reflux et neutralisation, on récupère l'éthyl 2-chloro-4-méthylquinoline-3-carboxylate par filtration.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz) δ 8.10 (d, J = 8.1Hz, 1H, H6), 7.94 (t, J = 7.2Hz, 1H, H7), 7.69 (t, J = 7.5Hz, 1H, H8), 7.44 (m, 6H, H9, H15, H16, H17, H18, H19), 4.08 (q, J = 6.9Hz, 2H, H21), 0.92 (t, J = 6.9Hz, 3H, H22).

**Calc** = C(69.35%) H(4.53%) Cl(11.37%) N(4.49%) O(10.26%).

**Exp** = C(69.32%) H(4.55%) Cl(11.34%) N(4.53%).

**5-methyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F26) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-1-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (0.30g, 1.13mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine à 98% (0.3mL) et l'éthoxyéthanol (25mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé à l'éther.

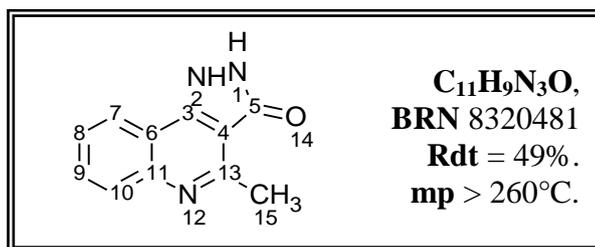
**IR** (KBr)  $\nu$  3328, 1651, 1585, 1554cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.92 (d, J = 7.2Hz, 1H, H13), 7.38 (t, J = 7.5Hz, 1H, H12), 7.30 (d, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.12 (t, J = 6.9Hz, 1H, H11), 3.47 (s, 3H, H15, H15).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  163.65 (CO), 160.44 (CO), 144.96 (C, C3), 139.57 (C, C7), 128.39 (CH, C12), 121.50 (CH, C10), 121.20 (CH, C11), 117.48 (C, C6), 115.20 (CH, C13), 92.26 (C, C4), 28.06 (CH<sub>3</sub>, C15).

**Calc** = C(61.39%) H(4.22%) N(19.53%) O(14.87%).

**Exp** = C(61.37%) H(4.2%) N(19.57%).

**4-methyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F27) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate (0.50g, 2.00mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine à 98% (0.5mL) et l'éthoxyéthanol (50mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, 1/3 de l'éthoxyéthanol est évaporé, puis le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

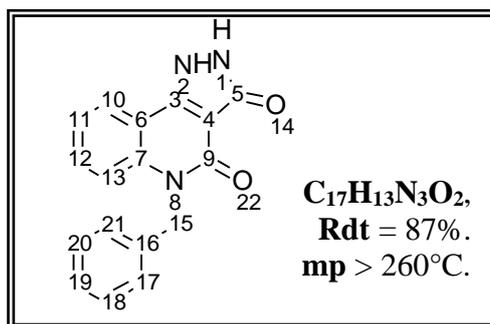
**IR** (KBr)  $\nu$  3244, 1624, 1593, 1550cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.32 (s, 1H, NH), 8.02 (d, J = 9.3Hz, 1H, H7), 7.67 (d, J = 8.4Hz, 1H, H10), 7.54 (t, J = 7.5Hz, 1H, H9), 7.40 (t, J = 7.8Hz, 1H, H8), 2.72 (s, 3H, H15).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  165.49 (CO), 152.63 (CO), 142.77 (C, C3), 136.04 (C, C11), 129.32 (CH, C9), 125.67 (CH, C7), 121.77 (CH, C8), 119.49 (C, C6), 118.93 (CH, C10), 103.28 (C, C4), 15.22 (CH<sub>3</sub>, C15).

**Calc** = C(66.32%) H(4.55%) N(21.09%) O(8.03%).

**Exp** = C(66.35%) H(4.54%) N(21.12%).

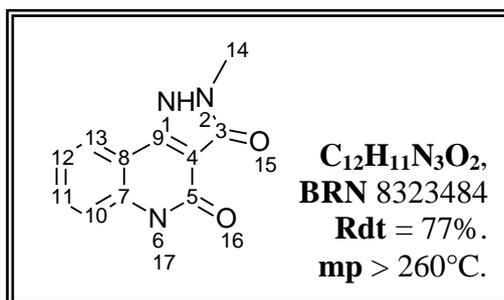
**5-benzyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F28) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 1-benzyl-4-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (50mg, 0.15mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine à 98% (25 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 1h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1643, 1554  $cm^{-1}$ .

**$^1H$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  8.06 (d,  $J = 7.8Hz$ , 1H, H13), 7.45 (t,  $J = 8.1Hz$ , 1H, H12), 7.24 (m, 8H, NH, H10,H11, H17-H21), 5.50 (s, 2H, H15).

**$^{13}C$  NMR** (DMSO- $d_6$ , 300MHz)  $\delta$  160.34 (2xCO), 138.37 (C, C3), 137.81 (C, C7), 133.92 (C, C16), 130.24 (CH, C12), 128.90 (2xCH, C20, C18), 127.19 (CH, C19), 126.70 (2xCH, C17, C21), 122.72 (CH, C10), 122.24 (CH, C11), 118.21 (C, C6), 116.63 (CH, C13), 101.29 (C, C4), 44.03 (CH<sub>2</sub>, C15).

**2,5-dimethyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F29) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-1-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (0.50g, 1.88mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (0.5mL) et l'éthoxyéthanol (20mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, 1/3 de l'éthoxyéthanol est évaporé, puis le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

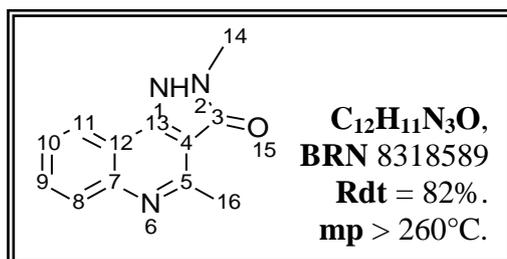
**IR** (KBr)  $\nu$  3256, 1647, 1596, 1542cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.17 (d, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.60 (t, J = 7.2Hz, 1H, H11) 7.55 (d, J = 8.4Hz, 1H, H13), 7.34 (t, J = 7.2Hz, 1H, H12), 4.13 (s, 3H, H17), 3.57 (s, 3H, H14).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  157.71 (CO), 157.62 (CO), 139.58 (C, C9), 139.15 (C, C7), 130.20 (CH, C11), 123.74 (CH, C13), 122.15 (CH, C12), 116.29 (CH, C10), 112.35 (C, C8), 98.31 (C, C4), 28.79(CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(62.87%) H(4.84%) N(18.33%) O(13.96%).

**Exp** = C(62.90%) H(4.82%) N(18.35%).

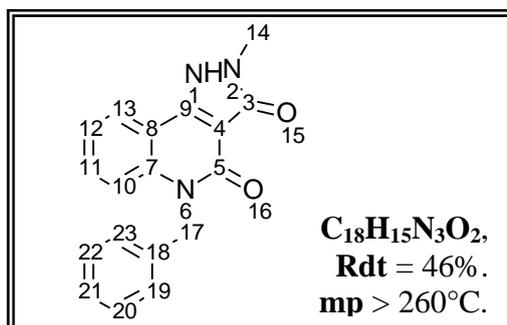
**2,4-dimethyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F30) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate (0.5g, 2.00mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (0.5mL) et l'éthoxyéthanol (20mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3394, 1635, 1604, 1558, 1508, 7767, 725, 709cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.41 (d, J = 8.1Hz, 1H, H11), 8.01 (d, J = 8.1Hz, 1H, H8), 7.72 (t, J = 7.5Hz, 1H, H10), 7.61 (t, J = 7.2Hz, 1H, H9), 4.24 (s, 3H, H14), 2.59 (s, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  155.66 (C, C5), 154.96 (C, C13), 129.45 (C, C7), 129.13 (CH, C9), 125.97 (CH, C8), 122.70 (2xCH, C10, C11), 121.80 (CO), 118.97 (C, C12), 115.96 (C, C4), 37.31 (CH<sub>3</sub>, C14), 22.06 (CH<sub>3</sub>, C16).

**5-benzyl-2-methyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F31) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 1-benzyl-4-chloro-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (50mg, 0.15mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (25µL) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 1h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé à l'éther.

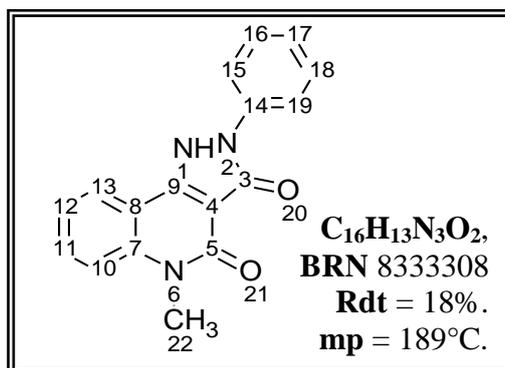
**IR** (KBr)  $\nu$  3355, 1651, 1573, 1546, 1523cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  10.71 (s, 1H, NH), 8.19 (d, J = 7.8Hz, 1H, H10), 7.48 (t, J = 7.5Hz, 1H, H11), 7.37 (d, J = 8.7Hz, 1H, H13), 7.29-7.20 (m, 6H, H19-H23, H12), 5.52 (s, 2H, H17), 4.16 (s, 3H, H14).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  157.92 (2xCO), 139.60 (C, C9), 138.68 (C, C7), 137.66 (C, C18), 130.08 (CH, C11), 128.92 (2xCH, C20, C22), 127.22 (CH, C21), 126.67 (2xCH, C19, C23), 124.00 (CH, C13), 122.29 (CH, C12), 116.83 (CH, C10), 112.73 (C, C8), 98.25 (C, C4), 44.13 (CH<sub>2</sub>, C17), 39.26 (CH<sub>3</sub>, C14).

**Calc** = C(70.81%) H(4.95%) N(13.76%) O(10.48%).

**Exp** = C(70.83%) H(4.94%) N(13.72%).

**5-methyl-2-phenyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F32) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-1-méthyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (0.50g, 1.88mmol) est additionnée à une solution contenant la phénylhydrazine (1mL) et l'éthoxyéthanol (50mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, 1/3 de l'éthoxyéthanol est évaporé, puis le solide formé est solubilisé dans l'acétate d'éthyle et lavé à l'eau est filtré puis lavé à l'éther.

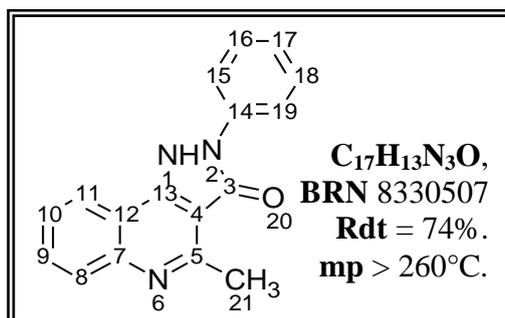
**IR** (KBr)  $\nu$  1627, 1593, 1569, 1542cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.19 (d, J = 7.7Hz, 1H, H13), 8.04 (d, J = 7.5Hz, 1H, H10), 7.45-7.08 (m, 5H, H15-H19), 6.95 (d, J = 7.8Hz, 1H, H11), 6.86 (t, J = 7.2Hz, 1H, H12), 3.50 (s, 3H, H22).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  166.11 (CO), 164.84 (CO), 160.93(C, C9), 140.11 (C, C14), 129.24 (C, C7), 129.22 (2xCH, C16, C18), 128.77 (2xCH, C15, C19), 123.98 (C, C17), 122.02 (CH, C13), 121.50 (CH, C12), 120.97 (C, C11), 119.93 (C, C8), 115.45 (CH, C10), 114.34 (C, C4), 28.11 (CH<sub>3</sub>, C22).

**Calc** = C(70.09 %) H(4.50%) N(14.42%) O(10.98%).

**Exp** = C(70.07 %) H(4.52%) N(14.45%).

**4-methyl-2-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F33) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate (1g, 4.00mmol) est additionnée à une solution contenant la phénylhydrazine (1mL) et l'éthoxyéthanol (50mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

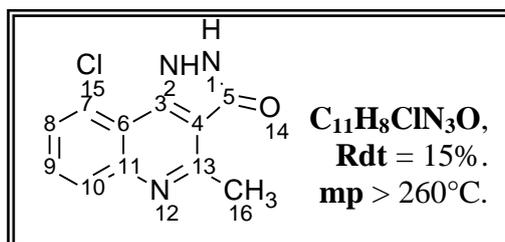
**IR** (KBr)  $\nu$  3247, 3201, 3132, 3105, 3066, 1643, 1577, 1546, 1515cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.44 (s, 1H, NH), 8.22 (d, J = 8.1Hz, 1H, H11), 8.17 (d, J = 7.8Hz, 1H, H8), 7.63 (d, J = 3.6Hz, 2H, H16, H18), 7.44 (m, 4H, H9, H10, H15, H19), 7.16 (t, J = 7.2Hz, 1H, H17) 2.80 (s, 3H, H21).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  162.58 (CO), 153.57 (C, C5), 143.10 (C, C13), 140.57 (C, C7), 136.18 (C, C14), 130.27 (CH, C9), 128.95 (2CH, C16, C18), 126.16 (CH, C8), 124.16 (CH, C10), 122.25 (CH, C11), 119.15 (CH, C17), 118.95 (2CH, C15, C19), 118.57 (C, C12), 103.83 (C, C4), 15.51 (CH<sub>3</sub>, C4).

**Calc** = C(74.17%) H(4.76%) N(15.26%) O(5.81%).

**Exp** = C(74.19%) H(4.75%) N(15.21%).

**9-chloro-4-methyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F34) : [153]**

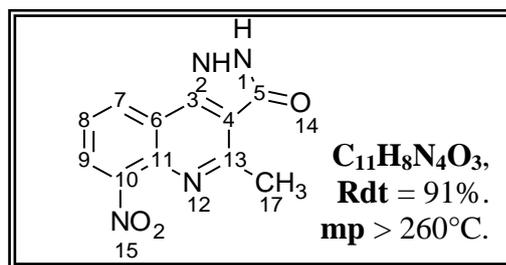
Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4,5-dichloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate (50mg, 0.17mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine à 98% (25 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 1h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1658, 1589, 1508cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.52 (s, 1H, H10), 7.49 (s, 1H, H8), 7.47 (s, 1H, H9), 3.12 (m, 2H, NH), 2.70 (s, 3H, H16).

**Calc** = C(56.54%) H(3.45%) Cl(15.17%) N(17.98%) O(6.85%).

**Exp** = C(56.50%) H(3.47%) Cl(15.21%) N(17.95%).

**4-methyl-6-nitro-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F35) : J[153]**

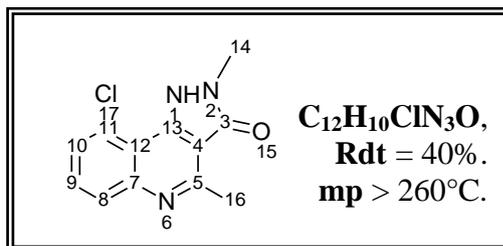
Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.68mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (0.3mL) et l'éthoxyéthanol (10mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3294, 3112, 3062, 1666, 1631, 1604, 1504cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.42 (d, J = 6.3Hz, 1H, H7), 8.07 (d, J = 4.8Hz, 1H, H9), 7.58 (t, J = 6.3Hz, 1H, H8), 2.73 (s, 3H, H17).

**Calc** = C(54.10%) H(3.30%) N(22.94%) O(19.66%).

**Exp** = C(54.13%) H(3.21%) N(22.91%).

**9-chloro-2,4-dimethyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F36) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4,5-dichloro-2-méthylquinoline-3-carboxylate (100mg, 0.35mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (80 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 4h. Après retour à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé à l'éther.

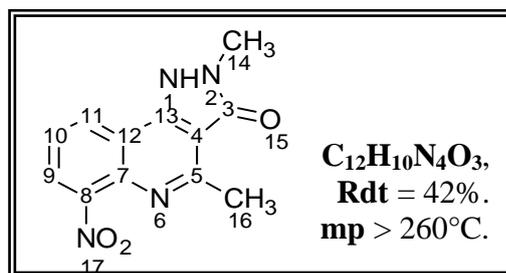
**IR** (KBr)  $\nu$  2677, 1658, 1608, 1562, 1508cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  12.31 (s, 1H, NH), 7.51 (m, 3H, H10, H9, H8), 3.47 (s, 3H, H14), 2.72 (s, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  158.14 (CO), 152.38 (C, C15), 139.47 (C, C13), 137.70 (C, C7), 129.45 (C, C17), 129.42 (CH, C10), 127.44 (CH, C9), 117.66 (CH, C8), 117.11 (C, C4), 103.68 (C, C12), 31.83 (CH<sub>3</sub>), 14.93 (CH<sub>3</sub>).

**Calc** = C(58.19%) H(4.07%) Cl(14.31%) N(16.97%) O(6.46%).

**Exp** = C(58.17%) H(4.06%) Cl(14.35%) N(16.92%).

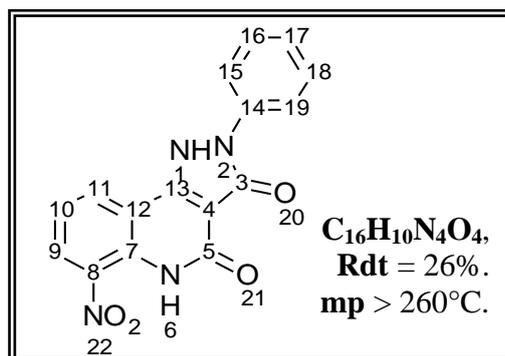
**2,4-dimethyl-6-nitro-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one (F37) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (68.8mg, 0.23mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (40μL) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, on ajoute quelques gouttes d'éther, puis le solide formé est filtré et lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1581, 1554, 1535, 1373, 1307, 1130cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  11.52 (s, 1H, NH), 8.63 (s, 1H, H11), 8.11 (s, 1H, H9), 7.72 (s, 1H, H10), 4.27 (s, 3H, H14), 2.76 (s, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  159.85 (CO), 157.86 (C, C5), 155.72 (C, C13), 148.92 (C, C8), 138.19 (C, C7), 136.73 (C, C12), 125.88 (CH, C11), 124.97 (CH, C9), 121.59 (CH, C10), 117.31 (C, C4), 39.68 (N-CH<sub>3</sub>), 22.86 (CH<sub>3</sub>).

**6-nitro-2-phenyl-1H-pyrazolo[4,3-c]quinoline-3,4(2H,5H)-dione (F38) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 4-chloro-2-méthyl-8-nitroquinoline-3-carboxylate (0.17g, 0.54mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (0.3mL) et l'éthoxyéthanol (10mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

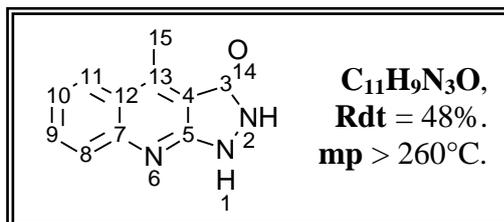
**IR** (KBr)  $\nu$  3224, 3039, 1596, 1554, 1531cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  9.66 (s, 1H, NH), 8.23 (d, J = 7.8Hz, 1H, H11), 7.44-7.38 (m, 2H, H16, H18), 7.26 (t, J = 8.1Hz, 1H, H10), 7.15-7.07 (m, 2H, H15, H19), 6.90 (t, J = 7.8Hz, 2H, H17, H9).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  151.65 (CO), 148.43 (CO), 144.35 (C, C13), 140.93 (C, C8), 137.68 (C, C14), 129.31 (2xCH, C16, C18), 128.90 (2xCH, C15, C19), 124.96 (C, C7), 123.71 (CH, C11), 120.94 (CH, C9), 118.54 (CH, C17), 116.57 (C, C12), 114.13 (CH, C10), 110.70 (C, C4).

**Calc** = C(59.63%) H(3.13%) N(17.38%) O(19.86%).

**Exp** = C(59.61%) H(3.12%) N(17.42%).

**4-methyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[3,4-b]quinolin-3-one (F39) : [153]**

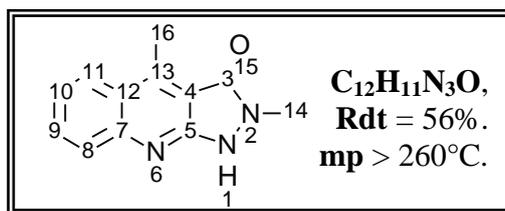
Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 2-chloro-4-méthylquinoline-3-carboxylate (0.2g, 0.80mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (75µL) et l'éthoxyéthanol (6mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  1638, 1610, 1510 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.17 (s, 1H, NH), 8.03 (d, J = 8.1Hz, 1H, H11), 7.68 (t, J = 8.1Hz, 1H, H9), 7.53 (d, J = 8.1Hz, 1H, H8), 7.30 (t, J = 7.8Hz, 1H, H10), 3.87 (s, 1H, NH), 2.93 (s, 3H, H15).

**Calc** = C(66.32%) H(4.55%) N(21.09%) O(8.03%).

**Exp** = C(66.30%) H(4.56%) N(21.05%).

**4-methyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[3,4-b]quinolin-3-one (F40) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 2-chloro-4-méthylquinoline-3-carboxylate (0.25g, 1.00mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (100 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (6mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

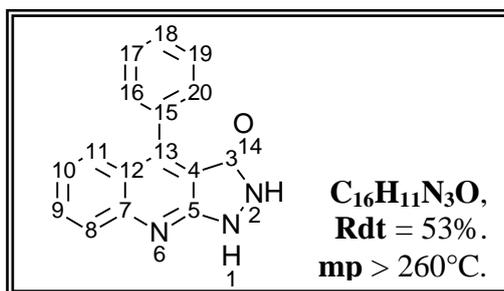
**IR** (KBr)  $\nu$  3112, 1668, 1622, 1611, 1570  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  8.19 (d, *J* = 6.9Hz, 1H, H11), 7.88 (d, *J* = 7.2Hz, 1H, H8), 7.72 (t, *J* = 6.3Hz, 1H, H9), 7.44 (m, 1H, H10), 3.68 (s, 3H, H14), 3.04 (s, 3H, H16).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  156.67 (CO), 152.22 (C, C5), 148.96 (C, C7), 144.58 (C, C13), 131.03 (CH, C9), 128.12 (CH, C11), 125.69 (CH, C8), 133.61 (C, C12), 123.01 (CH, C10), 107.78 (C, C4), 37.26 (CH<sub>3</sub>, C14), 13.47 (CH<sub>3</sub>, C16).

**Calc** = C(67.59%) H(5.20%) N(19.71%) O(7.50%).

**Exp** = C(67.56%) H(5.22%) N(19.74%).

**4-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[3,4-b]quinolin-3-one (F41) : [153]**

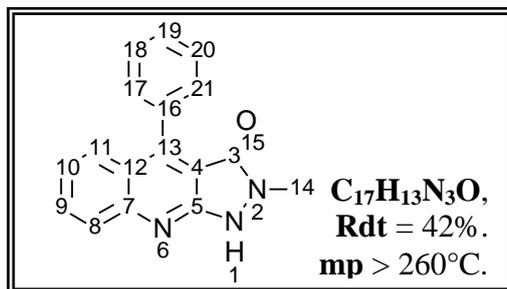
Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 2-chloro-4-phenylquinoline-3-carboxylate (0.15g, 0.48mmol) est additionnée à une solution contenant l'hydrazine (75 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3251, 1683, 1640, 1591  $\text{cm}^{-1}$ .

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.80 (d, *J* = 8.4Hz, 1H, H11), 7.70 (t, *J* = 7.2Hz, 1H, H9), 7.44 (m, 6H, H8, H16-H20), 7.27 (t, *J* = 7.5Hz, 1H, H10).

**Calc** = C(73.55%) H(4.24%) N(16.08%) O(6.12%).

**Exp** = C(73.51%) H(4.26%) N(16.12%).

**2-methyl-4-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazolo[3,4-b]quinolin-3-one (F42) : [153]**

Selon le mode opératoire B de la cyclisation, l'éthyl 2-chloro-4-phenylquinoline-3-carboxylate (50mg, 0.16mmol) est additionnée à une solution contenant la méthylhydrazine (25 $\mu$ L) et l'éthoxyéthanol (5mL). La solution est ensuite chauffée à reflux pendant 2h. Après retour à température ambiante, le solide formé est filtré puis lavé à l'éther.

**IR** (KBr)  $\nu$  3197, 3120, 1604, 1577, 1558cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  7.98 (d, J = 8.4Hz, 1H, H11), 7.72 (t, J = 9.2Hz, 1H, H9), 7.54 (m, 6H, H8, H17-H21), 7.36 (t, J = 6.6Hz, 1H, H10), 3.84 (s, 3H, H14).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300MHz)  $\delta$  155.78 (CO), 154.59 (C, C5), 152.32 (C, C7), 148.96 (C, C13), 133.91 (C, C16), 131.04 (CH, C19), 130.50 (2xCH, C18, C20), 128.91 (CH, C9), 128.15 (2xCH, C17, C21), 127.96 (CH, C8), 127.16 (CH, C11), 123.39 (CH, C10), 122.22 (C, C4), 119.40 (C, C12).

**Calc** = C(74.17%) H(4.76%) N(15.26%) O(5.81%).

**Exp** = C(74.19%) H(4.74%) N(15.22%).

## Partie Tests Chimiques

### *Test de Chélation du Cu(II), Fe (II et III)*

L'absorbance de la molécules à différentes concentrations est réalisée afin de déterminer la concentration adaptée aux mesures de chélation.

Dans notre cas la concentration retenue est 15µM. On enregistre les spectres entre 190 et 500nm de la molécule en présence de différents équivalents du métal.

On mesure par la suite la variation d'absorbance en fonction des différents équivalents pour un maximum d'absorbance donné.

### *Test de La Ferrozine*

Dans chaque puit (plaque de 96 puits), contenant les différentes concentrations de la molécule, on introduit dans cet ordre, 100µL de FeSO<sub>4</sub> (2mM) et 10 µL de ferrozine (0.1M). Les plaques sont agitées 10min à température ambiante puis la lecture se fait à 570nm.

$$\text{Chelating ability (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

### *Test du DPPH*

Les composés sont dilués à différentes concentrations (0.3mL) dans le méthanol. A ceux-ci, on ajoute une solution méthanoïque de DPPH ( $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ , 2.7mL).

Le mélange est ensuite agité de façon rigoureuse pendant 2h à l'obscurité. La réduction du radical DPPH est déterminée en mesurant l'absorption à 517nm. Le RSA est calculé de la manière suivante:

$$\% \text{RSA} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{S}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

$A_{\text{S}}$  : est l'absorbance de la solution en présence du composé

$A_{\text{DPPH}}$  : est l'absorbance de la solution en l'absence du composé

La curcumine et la quercétine sont utilisées en tant que références

## *Test de l'anion superoxyde*

### Préparation des Solutions

Les solutions suivantes seront solubilisées avec un tampon phosphate 0.1M pH 7.4, et sont à préparer extemporanément :

Solution de NBT à 150  $\mu$ M, Précaution : le NBT se dégrade à la lumière, utiliser du papier aluminium (conservé au réfrigérateur)

Solution de NADH à 468 $\mu$ M (conservé au réfrigérateur)

Solution de Phénazine à 60 $\mu$ M (congélateur)

### Préparation de la Gamme

On prépare deux gammes, une gamme en absence de phénazine qui va permettre de mesurer l'absorbance A1 des molécules à différentes concentrations.

Puis une deuxième gamme en présence de phénazine qui va permettre de mesurer l'absorbance A2 des molécules à différentes concentrations.

Dans les tubes à hémolyse contenant les composés à différentes concentrations, on introduit successivement, 1mL de NBT, de NADH et de phénazine méthosulfate pour la seconde gamme.

La lecture de l'absorbance peut se faire avec un lecteur de plaque ou avec un spectrophotomètre UV/visible à une longueur d'onde de 570 nm.

Calculs

$$\text{SASA (\%)} = ((A_0 - A')/A_0) * 100 \text{ ou } \text{SASA (\%)} = (1 - (A'/A_0)) * 100$$

A<sub>0</sub> : blanc

A<sub>1</sub> : absorbance de la molécule en absence de phénazine

A<sub>2</sub> : absorbance de la molécule en présence de phénazine

A' : A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub>

## Les tests d'inhibition d'acétyl/butyryl-cholinestérase

### *Inhibition de l'acétylcholinestérase*

La méthode expérimentale suit le protocole précédemment décrit (Biochem. Pharmacol. 1961, 7, 88-95). La détermination de l'inhibition de l'AChE (extrait de l'anguille électrique) est réalisée dans des plaques de 12 puits avec un volume final de 3mL d'une solution de tampon de PBS à pH 8, contenant 0.035 unité/mL de AChE et 0.35mM d'acide 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB), utilisé pour produire l'anion de couleur jaune (acide 5-tio-2-nitrobenzoïque). Les courbes d'inhibition avec les différentes concentrations sont réalisées par quadruplade incubant avec au moins neuf concentrations des composés pendant 10min. Ce temps écoulé, on ajoute le substrat d'iodure d'acétylcholine à 0.35mM à partir d'une solution mère à 10mM. Un échantillon sans composé réalisé par quadruplade est présent pour assuré le 100% de l'activité enzymatique. A 15min, se mesure la production de couleur à 412nm avec un lecteur de plaque spectrophotométrique. La concentration en composé qui produit 50% de l'activité enzymatique (IC50) se calcul par régression sigmoïdale de la représentation logarithmique de la concentration. Les résultats seront exprimés par la moyenne + l'erreur Standard d'au moins trois essais.

### *Inhibition de la butyrylcholinestérase*

Pour la détermination de la BuChE (extraite du sérum équine), la réaction est réalisée dans des plaques de 12 puits avec un volume final de 3mL d'une solution de tampon de PBS à pH 8, contenant 0.05 unité/mL de BuChE et 0.35mM d'acide 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Les courbes d'inhibition avec les différentes concentrations sont réalisées par quadruplade incubant avec au moins neuf concentrations des composés pendant 10min. Ce temps écoulé, on ajoute le substrat d'iodure de butyrylcholine à 0.5mM à partir d'une solution mère à 10mM. Un échantillon sans composé réalisé par quadruplade est présent pour assuré le 100% de l'activité enzymatique. A 15min, se mesure la production de couleur à 412nm avec un lecteur de plaque spectrophotométrique. La concentration en composé qui produit 50% de l'activité enzymatique (IC50) se calcul par régression sigmoïdale de la représentation

logarithmique de la concentration. Les résultats seront exprimés par la moyenne + l'erreur Standard d'au moins trois essais.

## Modélisation moléculaire

Les études de docking ont été réalisées avec le programme AutoDock (version 4.0). L'étude du docking utilisant ce programme a été utilisée pour explorer les liaisons existantes entre les composés et AChE. Nos objectifs ont été de déterminer les sites de liaisons et la conformation de la molécule, pour cela deux régions de la protéine ont été analysés, le CC et le PAS. Enfin la structure cristalline du complexe hAChE fasciculim (PDB code 1B41) a été sélectionné comme modèle. Il a permis de montrer les aminoacides clés pour la même séquence de l'EeAChE (PDB code 1C2B) dans la région concernée. Les fichiers d'affinités de la molécule cible, ont été générés par le programme auxiliaire AUTOGRID. Les dimensions du réseau sont 20 x 20 x 20 centré sur Trp86 et Trp286 pour les sites catalytique et périphérique (CC et PAS), respectivement avec un réseau séparé par 0.30 Å. La flexibilité du docking des ligands a été donnée par Lamarckian genetic algorithm, cherchant pour la conformation la plus favorable du ligand avec la protéine. Après le docking, les 100 solutions ont été réparties dans des groupes. Les groupes ont été classés par le représentant de plus basse énergie de chaque groupe. La géométrie des ligands a été dans un premier temps optimisée par le programme « ab initio quantum chemistry », Gaussian03 et la base B3LYP/3-21G\*. Les charges atomiques partielles ont ensuite été obtenues par la méthode RESP avec la base 6-31G\*. Différents conformères des ligands sont dockés avec le LGA, algorithme présent dans AutoDock, changeant de façon aléatoire les angles de torsions et l'orientation générale de la molécule.

# Références

1. Maurer, K., Volk, S., and Gerbaldo, H., *Auguste D and Alzheimer's disease*. The Lancet, **349**, (1997), 1546-1549.
2. Alzheimer, A., *Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters*. Zeitschrift für die Gesamte Neurologie und Psychiatrie **4**, (1911), 356-385.
3. [www.alz.org](http://www.alz.org). consulté le 15/07/2010
4. Mattson, M.P., *Pathways towards and away from Alzheimer's disease*. Nature, **430**, (2004), 631-639.
5. Parihar, M.S. and Hemnani, T., *Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions*. Journal of Clinical Neuroscience, **11**, (2004), 456-467.
6. Smith, D. G., Cappai, R., Barnham, K. J., *The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid  $\beta$  peptide*. Biochimica et Biophysica Acta, **1768**, (2007), 1976-1990.
7. Cole, S. and Vassar, R., *The Alzheimer's disease beta-secretase enzyme, BACE1*. Molecular Neurodegeneration, **2**, (2007), 22.
8. Lee, K.J., Moussa, C.E.H., Lee, Y., Sung, Y., Howell, B.W., Turner, R.S., Pak, D.T.S., and Hoe, H.S., *Beta amyloid-independent role of amyloid precursor protein in generation and maintenance of dendritic spines*. Neuroscience, **169**, 344-356.
9. [www.alzheimer-adna.com](http://www.alzheimer-adna.com). consulté le 17/07/2010
10. Lado, S., *Biologie des maladies neuro-dégénératives*. Médecine Nucléaire- Imagerie fonctionnelle et métabolique, **29**, (2005), 220-223.
11. Delacourte, A., *Le retour de la protéine tau*. La recherche, **10**, (2003), 44-48.
12. Buée, L., *Tauopathie et maladie d'Alzheimer, un processus dégénératif à part entière*. Psychology & NeuroPsychiatry, **4**, (2006), 261-273.
13. Mandelkow, E.M., Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., and Mandelkow, E., *Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses*. Neurobiology of Aging, **24**, (2003), 1079-1085.
14. Christen, Y., *Oxidative Stress and Alzheimer Disease*. American Journal of Clinical Nutrition, **71**, (2000), (suppl) : 621S-629S.
15. Lau, L.-F., *Alzheimer disease*. (2008).
16. Emerit, J., Edeas, M., and Bricaire, F., *Neurodegenerative diseases and oxidative stress*. Biomedecine & Pharmacotherapy, **58**, (2004), 39-46.
17. Desport, J.-C. and Couratier, P., *Stress oxydant et maladies neurodégénératives*. *Oxydative stress in neurodegenerative diseases*. Nutrition Clinique et Métabolisme, **16**, (2002), 253-259.

18. Garcia Hejl, C., Vrignaud, C., Garcia, C., and Ceppa, F., *Du gène à la maladie : les anomalies des transporteurs du cuivre*. *Pathologie Biologie*, **57**, (2009), 272-279.
19. Galey, J.-B., *Recent Advances in the Design of Iron Chelators Against Oxidative Damage*. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **1**, (2001), 233-242.
20. Lovell, M.A., Robertson, J.D., Teesdale, W.J., Campbell, J.L., and Markesbery, W.R., *Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques*. *Journal of the Neurological Sciences*, **158**, (1998), 47-52.
21. Barnham, K. J., Masters, C.L., Bush, A.I., *Neurodegenerative Diseases and Oxidative Stress*. *Nature reviews*, **3**, (2004), 205-214.
22. Gies, Y.L., *Pharmacologie : Des cibles vers l'indication thérapeutique*. (2003).
23. Terry, A.V.J. and Buccafusco, J.J., *The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer's Disease-Related Cognitive Deficits: Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development A*. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **306**, (2003), 821-827.
24. Apostolova, L.G. and Cummings, J.L., *The Pathogenesis of Alzheimer's Disease: General Overview*. *Protein Reviews*. Vol. 6. 2007: Springer US.
25. Duyckaerts, C., Colle, M.-A., Delatour, B., Hauw, J.-J., *Maladie d'Alzheimer : les lésions et leur progression*. *Rev Neurol (Paris)*, **155**, (1999), 17-27.
26. Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Muñoz-Torrero, D., Ramírez, L., Gómez, E., Isambert, N.s., Lavilla, R., Badia, A., Clos, M.V.r., Bartolini, M., Mancini, F., Andrisano, V., Arce, M.P., Rodríguez-Franco, M.I., Huertas, O.s., Dafni, T., and Luque, F.J., *Pyrano[3,2-c]quinoline-6-Chlorotacrine Hybrids as a Novel Family of Acetylcholinesterase- and Amyloid-Directed Anti-Alzheimer Compounds*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **52**, (2009), 5365-5379.
27. Hellström-Lindahl, E., *Modulation of [beta]-amyloid precursor protein processing and tau phosphorylation by acetylcholine receptors*. *European Journal of Pharmacology*, **393**, (2000), 255-263.
28. Rosini, M., Antonello, A., Cavalli, A., Bolognesi, M.L., Minarini, A., Marucci, G., Poggesi, E., Leonardi, A., and Melchiorre, C., *Prazosin-Related Compounds. Effect of Transforming the Piperazinylquinazoline Moiety into an Aminomethyltetrahydroacridine System on the Affinity for  $\alpha_1$ -Adrenoreceptors*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **46**, (2003), 4895-4903.
29. Johnson, I., *Antioxydants et anticancéreux*. *biofutur*, **186**, (1999), 14-17.

30. Grundman, M., *Vitamin E and Alzheimer disease: the basis for additional clinical trials*. Am J Clin Nutr, **71**, (2000), 630s-636.
31. Ann Marie, H. and Martin, R.F., *On the horizon: pathways for drug development in Alzheimer's disease*. Clinics in geriatric medicine, **20**, (2004), 141-152.
32. Francotte, P., Graindorge, E., Boverie, S., de Tullio, P., and Pirotte, B., *New trends in the design of drugs against Alzheimer's disease*. Curr Med Chem, **11**, (2004), 1757-1778.
33. Boots, A.W., Haenen, Guido, R.M.M., and Bast, A., *Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical*. European Journal of Pharmacology, **585**, (2008), 325-337.
34. Fukui, M., Choi, H.J., and Zhu, B.T., *Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death*. Free Radical Biology and Medicine, **49**, 800-813.
35. Moret, V., N. Pietrancosta, Y.L., Garino, C., Quéléver, G., Rolland, A., Mallet, B., Norreel J.-C., and Kraus, J.-L., *1,1'-Xylyl bis-1,4,8,11-tetraaza cyclotetradecane: A new potential copper chelator agent for neuroprotection in Alzheimer's disease. Its comparative effects with clioquinol on rat brain copper distribution*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **16**, (2006), 3298-3301.
36. Di Vaira, M., Bazzicalupi, C., Orioli, P., Messori, L., Bruni, B., and Zatta, P., *Clioquinol, a Drug for Alzheimer's Disease Specifically Interfering with Brain Metal Metabolism: Structural Characterization of Its Zinc(II) and Copper(II) Complexes*. Inorganic Chemistry, **43**, (2004), 3795-3797.
37. Yu, H., Saura, C.A., Choi, S.Y., Sun, L.D., Yang, X., Handler, M., Kawarabayashi, T., Younkin, L., Fedeles, B., Wilson, M.A., Younkin, S., Kandel, E.R., Kirkwood, A., and Shen, J., *APP processing and synaptic plasticity in presenilin-1 conditional knockout mice*. Neuron, **31**, (2001), 713 - 726.
38. Whitnall, M., and Richardson, R., *Iron: A New Target for Pharmacological Intervention in Neurodegenerative Diseases*. seminars in Pediatric Neurology, **13**, (2006), 186-197.
39. Gouras, G.K., Beal, M.F., *Metal Chelator Decreases Alzheimer  $\beta$ -amyloid Plaques*. Neuron, **30**, (2001), 641-647.
40. Atwood, C.S., Xilinas, M. E., Gray, D. N., Jones, W. D., Cherny, R. A., *Treatment with a Copper-Zinc Chelator Markedly and Rapidly Inhibits  $\beta$ -Amyloid Accumulation in Alzheimer's Disease Transgenic Mice*. Neuron, **30**, (2001), 665-676.

41. Roberds, S.L., Anderson, J., Basi, G., Bienkowski, M.J., Branstetter, D.G., Chen, K.S., Freedman, S.B., Frigon, N.L., Games, D., Hu, K., Johnson-Wood, K., Kappenman, K.E., Kawabe, T.T., Kola, I., Kuehn, R., Lee, M., Liu, W., Motter, R., Nichols, N.F., Power, M., Robertson, D.W., Schenk, D., Schoor, M., Shopp, G.M., Shuck, M.E., Sinha, S., Svensson, K.A., Tatsuno, G., Tintrup, H., Wijzman, J., Wright, S., and McConlogue, L., *BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary b-secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics*. Human Molecular Genetics, **10**, (2001), 1317 - 1324.
42. Davis, K.L. and Powchick, P., *Tacrine*. The Lancet, **345**, (1995), 625-630.
43. Galisteo, M., Rissel, M., Sergent, O., Chevanne, M., Cillard, J., Guillouzo, A., and Lagadic-Gossmann, D., *Hepatotoxicity of Tacrine: Occurrence of Membrane Fluidity Alterations without Involvement of Lipid Peroxidation*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, **294**, (2000), 160-167.
44. Barner, E.L. and Gray, S.L., *Donepezil use in Alzheimer disease*. The Annals of Pharmacotherapy, **32**, (1998), 70-77.
45. Spencer, C. M., *Drugs agings*, **13**, (1998).
46. Harvey, A. L., *The Parmacology of Galanthamine and its analogues*, Pharmacology & therapeutic, **68**, (1995), 113-128.
47. Ismaili, L., Nadaradjane, A., Nicod, L., Guyon, C., Xicluna, A., Robert, J.-F., and Refouvelet, B., *Synthesis and antioxidant activity evaluation of new hexahydropyrimido[5,4-c]quinoline-2,5-diones and 2-thioxohexahydropyrimido[5,4-c]quinoline-5-ones obtained by Biginelli reaction in two steps*. European Journal of Medicinal Chemistry, **43**, (2008), 1270-1275.
48. Gayral, P., *Quinine, antipaludiques, resistance des souches de Plasmodium*. (1989).
49. Michael, J.P., *Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids*. Natural Product Reports, **14**, (1997), 605-618.
50. Kim, W.-G., Kim, J.-P., Kim, C.-J., Lee, K.-H. and Yoo, I.-D., *Benzastatins A, B, C, and D: New Free Radical Scavengers from Streptomyces nitrosporeus 30643*. The Journal of Antibiotics, **49**, (1996), 20-25.
51. Chen, Y.-L., Fang, K.-C., Sheu, J.-Y., Hsu, S.-L., and Tzeng, C.-C., *Synthesis and Antibacterial Evaluation of Certain Quinolone Derivatives*. Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2001), 2374-2377.

52. Eswaran, S., Adhikari, A.V., and Shetty, N.S., *Synthesis and antimicrobial activities of novel quinoline derivatives carrying 1,2,4-triazole moiety*. European Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2009), 4637-4647.
53. Yakult Honsha Co. 1985, brevets Jap. 85 19.790 et US 4.604.463.
54. SMITHKLINE Corporation 1989, brevet européen 321.122.
55. Vázquez, M.T., Romero, M., and Pujol, M.D., *Synthesis of novel 2,3-dihydro-1,4-dioxino[2,3-g]quinoline derivatives as potential antitumor agents*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **12**, (2004), 949-956.
56. Monga, V., Nayyar, A., Vaitilingam, B., Palde, P.B., Singh Jhamb, S., Kaur, S., Singh, P.P., and Jain, R., *Ring-substituted quinolines. Part 2: Synthesis and antimycobacterial activities of ring-substituted quinolinecarbohydrazide and ring-substituted quinolinecarboxamide analogues*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **12**, (2004), 6465-6472.
57. Eswaran, S., Adhikari, A.V., Pal, N.K., and Chowdhury, I.H., *Design and synthesis of some new quinoline-3-carbohydrazone derivatives as potential antimycobacterial agents*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **20**, (2010), 1040-1044.
58. Oshiro, Y., Sakurai, Y., Sato, S., Kurahashi, N., Tanaka, T., Kikuchi, T., Tottori, K., Uwahodo, Y., Miwa, T., and Nishi, T., *3,4-Dihydro-2(1H)-quinolinone as a Novel Antidepressant Drug: Synthesis and Pharmacology of 1-[3-[4-(3-Chlorophenyl)-1-piperazinyl]propyl]-3,4-dihydro-5-methoxy-2(1H)-quinolinone and Its Derivatives*. Journal of Medicinal Chemistry, **43**, (2000), 177-189.
59. Skraup, Z.H., *Eine Synthese des chinolins*. Berichte, **13**, (1880), 2086.
60. Doebner, O., Ber. Dtsch. Chem. Ges., **14**, (1881), 2812-2817.
61. Mulumba, T., El Boukili-Garé, R., Séraphin, D., Noé, E., Charlet-Fagnère C., Hénin, J., Laronze, J., Sapi, J., Barret, R., Laronze, J.-Y., and Lévy, J., *Synthesis of compounds with the novel 2,3,7-triazaphenalene ring system*. Heterocycles, **41**, (1995), 29-36.
62. Denmark, S.E. and Venkatraman, S., *On the Mechanism of the Skraup-Doebner-Von Miller Quinoline Synthesis*. The Journal of Organic Chemistry, **71**, (2006), 1668-1676.
63. BASF corporation, N.J., *Synthesis of Quinolines by an improved Skraup reaction*. Organic Process Research & Development, **6**, (2001), 100.
64. De Paolis, O., Teixeira, L., and Török, B., *Synthesis of quinolines by a solid acid-catalyzed microwave-assisted domino cyclization-aromatization approach*. Tetrahedron Letters, **50**, (2009), 2939-2942.

65. Conrad, M., Berichte, **20**, (1887).
66. Chandrasekhar, B., Prasad, A.S.R., Eswaraiah, S., and Venkateswaralu, A., *Development of an Efficient Process for 4,5,7-Trichloroquinoline, A Key Intermediate for Agrochemical Synthesis*. Organic Process Research & Development, **6**, (2002), 242-245.
67. Combes, A., Bull. Chim. Soc. France, **49**, (1888), 89.
68. Zhang, Q., Zhang, Z., Yan, Z., Liu, Q. and Wang, T., *A New Efficient Synthesis of Pyranoquinolines from 1-Acetyl N-Aryl Cyclopentanecarboxamides*. Organic Letters, **9**, (2007), 3651-3653.
69. Deady, L.W. and Devine, S.M., *Novel annulated products from aminonaphthyridinones*. Tetrahedron, **62**, (2006), 2313-2320.
70. Friedländer, P., Berichte, **15**, (1882), 2572.
71. Marco-Contelles, J, Perez.-Mayoral, E., Samadi, A, Carreiras, M. C., and Soriano, E, *Recent Advances in the Friedländer Reaction*. Chemical Reviews, **109**, (2009), 2652-2671.
72. Das, B., Damodar., K.Chowdhury, N., Kumar, R. A., *Application of heterogeneous solid acid catalysts for Friedländer synthesis of quinolines*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, **274**, (2007), 148-152.
73. Atechian, S., Nock, N., Norcross, R. D., Ratni, H., Thomas, A. W., Verron J. and Masciadri, R., *New Vistas in quinoline synthesis*. Tetrahedron letters, **63**, (2007), 2007.
74. Barbero, M., Bazzi, S., Cadamuro, S., Dughera, S., *O-Benzenedisulfonimide as a reusable Bronsted acid catalyst for an efficient and facile synthesis of quinolines via Friedländer annulation*. Tetrahedron letters, **51**, (2010), 2342-2344.
75. Pfitzinger, W., Journal für Praktische Chemie, **33**, (1886), 100.
76. Lackey, K., Besterman, J.M., Fletcher, W., Leitner, P., Morton, B., and Sternbach, D.D., *Rigid Analogs of Camptothecin as DNA Topoisomerase I Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, **38**, (1995), 906-911.
77. Kravchenko, D.V., Kuzovkova, Y.A., Kysil, V.M., Tkachenko, S.E., Maliarchouk, S., Okun, I.M., Balakin, K.V., and Ivachtchenko, A.V., *Synthesis and Structure-Activity Relationship of 4-Substituted 2-(2-Acetyloxyethyl)-8-(morpholine-4-sulfonyl)pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as Potent Caspase-3 Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, **48**, (2005), 3680-3683.

78. Ivachtchenko, A.V., Khvat, A.V., Kobak, V.V., Kysil, V.M., and Williams, C.T., *A new insight into the Pfitzinger reaction. A facile synthesis of 6-sulfamoylquinoline-4-carboxylic acids*. *Tetrahedron Letters*, **45**, (2004), 5473-5476.
79. Zong, R., Zhou, H., and Thummel, R.P., *Direct Access to 4-Carboxy-1,8-naphthyridines and Related Compounds through Pfitzinger-Type Chemistry*. *The Journal of Organic Chemistry*, **73**, (2008), 4334-4337.
80. Campos, P.J., Añón, E., Malo, M.C., Tan, C.-Q., and Rodríguez, M.A., *Synthesis of substituted benzoquinolines by the irradiation of 3-amino-2-alkene imines*. *Tetrahedron*, **54**, (1998), 6929-6938.
81. Arisawa, M., Theeraladanon, C., Nishida, A., and Nakagawa, M., *Synthesis of substituted 1,2-dihydroquinolines and quinolines using ene-ene metathesis and ene-enol ether metathesis*. *Tetrahedron Letters*, **42**, (2001), 8029-8033.
82. Astruc, D., *The metathesis reactions: from a historical perspective to recent developments*. *New Journal of Chemistry*, **29**, (2005), 42-56.
83. Kirkwood, T.B.L. and Austad, S.N., *Why do we age?* *Nature*, **408**, (2000), 233-238.
84. Li, G.-X., Liu, Z.-Q., and Luo, X.-Y., *Dichloro-4-quinolinol-3-carboxylic acid: Synthesis and antioxidant abilities to scavenge radicals and to protect methyl linoleate and DNA*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**, 1821-1827.
85. Jia, P., Sheng, R., Zhang, J., Fang, L., He, Q., Yang, B., and Hu, Y., *Design, synthesis and evaluation of galanthamine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44**, (2009), 772-784.
86. Gao, F., Bales, K.R., Dodel, R.C., Liu, J., Chen, X., Hample, H., Farlow, M.R., Paul, S.M., and Du, Y., *NF- $\kappa$ B mediates IL-1 $\beta$ -induced synthesis/release of  $\alpha$ 2-macroglobulin in a human glial cell line*. *Molecular Brain Research*, **105**, (2002), 108-114.
87. Pierre, J.-L., Barret, P., Serratrice, G., *Hydroxyquinoline as iron chelators*. *Current Medicinal Chemistry*, **10**, (2003), 1077-1084.
88. Rodriguez-Franco, M.I., Fernandez-Bachiller, M.I., Perez, C., Hernandez-Ledesma, B., and Bartolomé, B., *Novel Tacrine-Melatonin Hybrids as Dual-Acting Drugs for Alzheimer Disease, with Improved Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **49**, (2005), 459-462.
89. Fang, L., Appenroth, D., Decker, M., Kiehintopf, M., Roegler, C., Deufel, T., Fleck, C., Peng, S., Zhang, Y., and Lehmann, J., *Synthesis and Biological Evaluation of NO-*

- Donor-Tacrine Hybrids as Hepatoprotective Anti-Alzheimer Drug Candidates*. Journal of Medicinal Chemistry, **51**, (2008), 713-716.
90. Elsinghorst, P.W., Cieslik, J.S., Mohr, K., Tränkle, C., and Gütschow, M., *First Gallamine-Tacrine Hybrid: Design and Characterization at Cholinesterases and the M2 Muscarinic Receptor*. Journal of Medicinal Chemistry, **50**, (2007), 5685-5695.
91. Ronco, C., Sorin, G., Nachon, F., Foucault, R., Jean, L., Romieu, A., and Renard, P.-Y., *Synthesis and structure-activity relationship of Huprine derivatives as human acetylcholinesterase inhibitors*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **17**, (2009), 4523-4536.
92. León, R., Marco-Contelles, J., García, A.G., and Villarroja, M., *Synthesis, acetylcholinesterase inhibition and neuroprotective activity of new tacrine analogues*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **13**, (2005), 1167-1175.
93. Sterling, J., Herzig, Y., Goren, T., Finkelstein, N., Lerner, D., Goldenberg, W., Miskolczi, I., Molnar, S., Rantal, F., Tamas, T., Toth, G., Zagyva, A., Zekany, A., Lavian, G., Gross, A., Friedman, R., Razin, M., Huang, W., Kraiss, B., Chorev, M., Youdim, M.B., and Weinstock, M., *Novel Dual Inhibitors of AChE and MAO Derived from Hydroxy Aminoindan and Phenethylamine as Potential Treatment for Alzheimer's Disease*. Journal of Medicinal Chemistry, **45**, (2002), 5260-5279.
94. Toda, N., Tago, K., Marumoto, S., Takami, K., Ori, M., Yamada, N., Koyama, K., Naruto, S., Abe, K., Yamazaki, R., Hara, T., Aoyagi, A., Abe, Y., Kaneko, T., and Kogen, H., *A conformational restriction approach to the development of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter as potential agents for Alzheimer's disease*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **11**, (2003), 4389-4415.
95. Casellas, P., Galiegue, S., and Basile, A.S., *Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function*. Neurochemistry International, **40**, (2002), 475-486.
96. Venneti, S., Lopresti, B.J., and Wiley, C.A., *The peripheral benzodiazepine receptor (Translocator protein 18 kDa) in microglia: From pathology to imaging*. Progress in Neurobiology, **80**, (2006), 308-322.
97. Ferlin, M.G., Chiarello, G., Dall'Acqua, S., Maciocco, E., Mascia, M.P., Pisu, M.G., and Biggio, G., *Novel anellated pyrazoloquinolin-3-ones: synthesis and in vitro BZR activity*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **13**, (2005), 3531-3541.
98. Cappelli, A., Matarrese, M., Moresco, R.M., Valenti, S., Anzini, M., Vomero, S., Turolla, E.A., Belloli, S., Simonelli, P., Filannino, M.A., Lecchi, M., and Fazio, F., *Synthesis, labeling, and biological evaluation of halogenated 2-*

- quinolinecarboxamides as potential radioligands for the visualization of peripheral benzodiazepine receptors*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**, (2006), 4055-4066.
99. Belloli, S., Moresco, R.M., Matarrese, M., Biella, G., Sanvito, F., Simonelli, P., Turolla, E., Olivieri, S., Cappelli, A., Vomero, S., Galli-Kienle, M., and Fazio, F., *Evaluation of three quinoline-carboxamide derivatives as potential radioligands for the in vivo pet imaging of neurodegeneration*. *Neurochemistry International*, **44**, (2004), 433-440.
100. Stevenson, L., Tavares, A.A.S., Brunet, A., McGonagle, F.I., Dewar, D., Pimlott, S.L., and Sutherland, A., *New iodinated quinoline-2-carboxamides for SPECT imaging of the translocator protein*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20**, 954-957.
101. Manera, C., Cascio, M.G., Benetti, V., Allarà, M., Tuccinardi, T., Martinelli, A., Saccomanni, G., Vivoli, E., Ghelardini, C., Di Marzo, V., and Ferrarini, P.L., *New 1,8-naphthyridine and quinoline derivatives as CB2 selective agonists*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **17**, (2007), 6505-6510.
102. Gazit, A., H., McMahon, G., Chen, J., Levitzki, A., and Bohmer, F.D., *Tyrphostins. 5. Potent Inhibitors of Platelet-Derived Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase: Structure-Activity Relationships in Quinoxalines, Quinolines, and Indole Tyrphostins*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **39**, (1996), 2170-2177.
103. Elliott, J.M., Carling, R.W., Chicchi, G.G., Crawforth, J., Hutson, P.H., Jones, A.B., Kelly, S., Marwood, R., Meneses-Lorente, G., Mezzogori, E., Murray, F., Rigby, M., Royo, I., Russell, M.G.N., Shaw, D., Sohal, B., Tsao, K.L., and Williams, B., *N',2-Diphenylquinoline-4-carbohydrazide based NK3 receptor antagonists II*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, (2006), 5752-5756.
104. Niementowski, S., *Berichte*, **27**, (1894), 1394.
105. Niementowski, S., *Journal für Praktische Chemie*, **51**, (1895), 564.
106. Kappe, T., Stadlbauer, W., *Isatoic Anhydrides and their Uses in Heterocyclic Synthesis*. *Advances in Heterocyclic chemistry*, **28**, (1981), 127-182.
107. Alexandre, F.-R., Berecibar, A., Wrigglesworth, R., and Besson, T., *Novel series of 8H-quinazolino[4,3-b]quinazolin-8-ones via two Niementowski condensations*. *Tetrahedron*, **59**, (2003), 1413-1419.
108. Vu, A.T., Campbell, A.N., Harris, H.A., Unwalla, R.J., Manas, E.S., and Mewshaw, R.E., *ER[beta] ligands. Part 6: 6H-Chromeno[4,3-b]quinolines as a new series of estrogen receptor [beta]-selective ligands*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **17**, (2007), 4053-4056.

109. Beutner, G.L., Kuethe, J.T., and Yasuda, N., *A Practical Method for Preparation of 4-Hydroxyquinolinone Esters*. *The Journal of Organic Chemistry*, **72**, (2007), 7058-7061.
110. Hardtmann, G.M., Coppola, G.E., *Transformations in the 2-quinolone Series*. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **18**, (1981), 917-920.
111. Jonsson, S., Andersson, G., Fex, T., Fristedt, T., Hedlund, G., Jansson, K., Abramo, L., Fritzson, I., Pekarski, O., Runstrom, A., Sandin, H., Thuveesson, I., and Bjork, A., *Synthesis and Biological Evaluation of New 1,2-Dihydro-4-hydroxy-2-oxo-3-quinolinecarboxamides for Treatment of Autoimmune Disorders: Structure-Activity Relationship*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **47**, (2004), 2075-2088.
112. Pirrung, M.C. and Blume, F., *Rhodium-Mediated Dipolar Cycloaddition of Diazoquinolinediones*. *The Journal of Organic Chemistry*, **64**, (1999), 3642-3649.
113. Mavandadi, F. and Pilotti, Å., *The impact of microwave-assisted organic synthesis in drug discovery*. *Drug Discovery Today*, **11**, (2006), 165-174.
114. Yadav, J.S. and Reddy, B.V.S., *Microwave-assisted rapid synthesis of the cytotoxic alkaloid luotonin A*. *Tetrahedron Letters*, **43**, (2002), 1905-1907.
115. Lee, E.S., Park, J.-G., and Jahng, Y., *A facile synthesis of simple alkaloids--synthesis of 2,3-polymethylene-4(3H)-quinazolinones and related alkaloids*. *Tetrahedron Letters*, **44**, (2003), 1883-1886.
116. Pater, R., *2-aryl-4(3H)quinazolinones*. *journal of heterocyclic chemistry*, **8**, (1971), 699-702.
117. Domon, L., Le Coeur, C., Grelard, A., Thiéry, V., and Besson, T., *Efficient modified von Niementowski synthesis of novel derivatives of 5a,14b,15-triazabenz[a]indeno[1,2-c]anthracen-5-one from indolo[1,2-c]quinazoline*. *Tetrahedron Letters*, **42**, (2001), 6671-6674.
118. Alexandre, F.-R., Berecibar, A., Wrigglesworth, R., and Besson, T., *Efficient synthesis of thiazoloquinazolinone derivatives*. *Tetrahedron Letters*, **44**, (2003), 4455-4458.
119. Pereira, M.d.F., Picot, L., Guillon, J., Léger, J.-M., Jarry, C., Thiéry, V., and Besson, T., *Efficient synthesis of novel pentacyclic 6,7-dihydro-5a,7a,13,14-tetraaza-pentaphene-5,8-diones*. *Tetrahedron Letters*, **46**, (2005), 3445-3447.
120. Biginelli, P., *Gazzetta Chimica Italiana*, **23**, (1893), 360-416.
121. Steele, T.G., Coburn, C.A., Patane, M.A., and Bock, M.G., *Expedient synthesis of 5-unsubstituted 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones*. *Tetrahedron Letters*, **39**, (1998), 9315-9318.

122. Bigi, F., Carloni, S., Frullanti, B., Maggi, R., and Sartori, G., *A revision of the Biginelli reaction under solid acid catalysis. Solvent-free synthesis of dihydropyrimidines over montmorillonite KSF*. Tetrahedron Letters, **40**, (1999), 3465-3468.
123. Ceganec, I., Litvic, M., Bartolincic, A., and Lovric, M., *Ferric chloride/tetraethyl orthosilicate as an efficient system for synthesis of dihydropyrimidinones by Biginelli reaction*. Tetrahedron, **61**, (2005), 4275-4280.
124. Atwal, K.S., Rovnyak, G.C., Schwartz, J., Moreland, S., Hedberg, A., Gougoutas, J.Z., Malley, M.F., and Floyd, D.M., *Dihydropyrimidine calcium channel blockers: 2-heterosubstituted 4-aryl-1,4-dihydro-6-methyl-5-pyrimidinecarboxylic acid esters as potent mimics of dihydropyridines*. Journal of Medicinal Chemistry, **33**, (1990), 1510-1515.
125. Atwal, K.S., Swanson, B.N., Unger, S.E., Floyd, D.M., Moreland, S., Hedberg, A., and O'Reilly, B.C., *Dihydropyrimidine calcium channel blockers. 3. 3-Carbamoyl-4-aryl-1,2,3,4-tetrahydro-6-methyl-5-pyrimidinecarboxylic acid esters as orally effective antihypertensive agents*. Journal of Medicinal Chemistry, **34**, (1991), 806-811.
126. Rovnyak, G.C., Atwal, K.S., Hedberg, A., Kimball, S.D., Moreland, S., Gougoutas, J.Z., O'Reilly, B.C., Schwartz, J., and Malley, M.F., *Dihydropyrimidine calcium channel blockers. 4. Basic 3-substituted-4-aryl-1,4-dihydropyrimidine-5-carboxylic acid esters. Potent antihypertensive agents*. Journal of Medicinal Chemistry, **35**, (1992), 3254-3263.
127. Gholap, A.R., Toti, K.S., Shirazi, F., Deshpande, M.V., and Srinivasan, K.V., *Efficient synthesis of antifungal pyrimidines via palladium catalyzed Suzuki/Sonogashira cross-coupling reaction from Biginelli 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones*. Tetrahedron, **64**, (2008), 10214-10223.
128. Chikhale, R.V., Bhole, R.P., Khedekar, P.B., and Bhusari, K.P., *Synthesis and pharmacological investigation of 3-(substituted 1-phenylethanone)-4-(substituted phenyl)-1, 2, 3, 4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylates*. European Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2009), 3645-3653.
129. Deshmukh, M.B., Salunkhe, S.M., Patil, D.R., and Anbhule, P.V., *A novel and efficient one step synthesis of 2-amino-5-cyano-6-hydroxy-4-aryl pyrimidines and their anti-bacterial activity*. European Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2009), 2651-2654.

130. Prashantha Kumar, B.R., Sankar, G., Nasir Baig, R.B., and Chandrashekar, S., *Novel Biginelli dihydropyrimidines with potential anticancer activity: A parallel synthesis and CoMSIA study*. European Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2009), 4192-4198.
131. Folkers, K., Journal of American Chemical Society, **55**, (1933), 3784-3791.
132. Sweet, F., Journal of American Chemical Society, **95**, (1973), 8741-8749.
133. Kappe, C.O., *A Reexamination of the Mechanism of the Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis. Support for an N-Acyliminium Ion Intermediate*. The Journal of Organic Chemistry, **62**, (1997), 7201-7204.
134. Ma, J.G., Zhang, J.M., Jiang, H.H., Ma, W.Y., and Zhou, J.H., *DFT study on mechanism of the classical Biginelli reaction*. Chinese Chemical Letters, **19**, (2008), 375-378.
135. Kappe, C.O., *Recent Advances in the Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis. New Tricks from an Old Dog*. Accounts of Chemical Research, **33**, (2000), 879-888.
136. Kappe, C.O., *100 Years of the Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis*. Tetrahedron, **49**, (1993), 6937-6963.
137. Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Hu, R., Zhang, K., and Li, Z., *In vitro antioxidant activity of acetylated and benzoyleated derivatives of polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta)*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **16**, (2006), 2441-2445.
138. Kiss, K., Csámpai, A., and Sohár, P., *New ferrocenyl-substituted heterocycles. Formation under Biginelli conditions, DFT modelling, and structure determination*. Journal of Organometallic Chemistry, **695**, 1852-1857.
139. Schmidt, R.J., Lombardo, L.J., Traeger, S.C., and Williams, D.K., *One-pot two step synthesis of 5-cyano-dihydropyrimidinones using polyphosphate ester*. Tetrahedron Letters, **49**, (2008), 3009-3010.
140. Sharma, P., Rane, N., and Gurram, V.K., *Synthesis and QSAR studies of pyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,5-dione derivatives as potential antimicrobial agents*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **14**, (2004), 4185-4190.
141. Sharma, P., Kumar, A., Rane, N., and Gurram, V., *Hetero Diels-Alder reaction: a novel strategy to regioselective synthesis of pyrimido[4,5-d]pyrimidine analogues from Biginelli derivative*. Tetrahedron, **61**, (2005), 4237-4248.

142. Mizar, P. and Myrboh, B., *Three-component synthesis of 5:6 and 6:6 fused pyrimidines using KF-alumina as a catalyst*. Tetrahedron Letters, **49**, (2008), 5283-5285.
143. Ashok, M., Holla, B.S., and Kumari, N.S., *Convenient one pot synthesis of some novel derivatives of thiazolo[2,3-b]dihydropyrimidinone possessing 4-methylthiophenyl moiety and evaluation of their antibacterial and antifungal activities*. European Journal of Medicinal Chemistry, **42**, (2007), 380-385.
144. Abdel-Gawad, S. M., El-Gaby, M.S.A., Ghorab, M. M., *Synthesis and antifungal activity of novel pyrano[2',3':4,5]thiazolo[2,3-b]quinazolines, pyrido[2',3':4,5]thiazolo[2,3-b]quinazolines and pyrazolo[2',3':4,5]thiazolo[2,3-b]quinazolines*. Il Farmaco, **55**, (2000), 287-292.
145. Ghorab M. M., Abdel-Gawad, S.M., El-Gaby, M. S. A., *Synthesis and evaluation of some new fluorinated hydroquinazoline derivatives as antifungal agents*. Il Farmaco, **55**, (2000), 249-255.
146. Tozkoparan, B., Ertan, M., Kelicen, P., and Demirdamar, R., *Synthesis and anti-inflammatory activities of some thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives*. Il Farmaco, **54**, (1999), 588-593.
147. Li, W.-J., Liu, S., He, P., and Ding, M.-W., *New efficient synthesis of pyrimido[1,6-c]quinazolin-4-ones by a Biginelli 3CC/Staudinger/aza-Wittig sequence*. Tetrahedron, **66**, (2010), 8151-8159.
148. Matache, M., Dobrota, C., Bogdan, N.D., Dumitru, I., Ruta, L.L., Paraschivescu, C.C., Farcasanu, I.C., Baciu, I., and Funeriu, D.P., *Synthesis of fused dihydro-pyrimido[4,3-d]coumarins using Biginelli multicomponent reaction as key step*. Tetrahedron, **65**, (2009), 5949-5957.
149. Singh, K., Arora, D., Falkowski, D., Liu, Q., and Moreland, R.S., *An Efficacious Protocol for 4-Substituted 3,4-Dihydropyrimidinones: Synthesis and Calcium Channel Binding Studies*. European Journal of Organic Chemistry, **2009**, (2009), 3258-3264.
150. Wermuth, C. G., Ganellin, C.R., Lindberg P., and Mitscher, L. A., *Glossary of terms used in medicinal chemistry*. Pure and Applied Chemistry, **70**, (1998), 1129-1143.
151. Leach, A.R., Gillet, V.J., Lewis, R.A., and Taylor, R., *Three-Dimensional Pharmacophore Methods in Drug Discovery*. Journal of Medicinal Chemistry, **53**, (2009), 539-558.
152. Barreca, M.L., Ferro, S., Rao, A., De Luca, L., Zappalà, M., Monforte, A.-M., Debyser, Z., Witvrouw, M., and Chimirri, A., *Pharmacophore-Based Design of HIV-1*

- Integrase Strand-Transfer Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, **48**, (2005), 7084-7088.
153. Ismaïli, L., Refouvelet, B., and Robert, J.F., *Synthesis of new pyrazolo[4,3-c]quinolin-3-one derivatives and some oxazolo[4,5-c]quinoline-2,4-diones*. Journal of Heterocyclic Chemistry, **36**, (1999), 719-722.
154. Gary, M.C. and Goetz, E.H., *Transformations in the 2-quinolone series*. Journal of Heterocyclic Chemistry, **18**, (1981), 917-920.
155. Zia-ur-Rehman, M., Choudary, J.A., Elsegood, M.R.J., Siddiqui, H.L., and Khan, K.M., *A facile synthesis of novel biologically active 4-hydroxy-N'-(benzylidene)-2H-benzo[e][1,2]thiazine-3-carbohydrazide 1,1-dioxides*. European Journal of Medicinal Chemistry, **44**, (2009), 1311-1316.
156. El-Kerdawy, M., Abou-Ouf, A., Tantawy, A., and El-Dahab, I.A., *Preparation of alkoxyquinoline derivatives and their evaluation as potential central nervous system stimulants*. Journal of Pharmaceutical Sciences, **73**, (1984), 1652-1653.
157. Kalusa, A., Chessum, N., and Jones, K., *An efficient synthesis of 2,3-diaryl (3H)-quinazolin-4-ones via imidoyl chlorides*. Tetrahedron Letters, **49**, (2008), 5840-5842.
158. Riemer, J., Hoepken, H.H., Czerwinska, H., Robinson, S.R., and Dringen, R., *Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells*. Analytical Biochemistry, **331**, (2004), 370-375.
159. [http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Ferritin/FerritinGraphics/ferrozine\\_net.gif](http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Ferritin/FerritinGraphics/ferrozine_net.gif). consulté le 20/07/2009
160. [http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Ferritin/FerritinGraphics/feFerr\\_net.gif](http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Ferritin/FerritinGraphics/feFerr_net.gif). consulté le 20/07/2009
161. Eklund Patrik C., L.O.K., Wärnå Johan P., Salmi Tapio O., Willför Stefan M. and Sjöholm Rainer E., *Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans*. Organic and Biomolecular Chemistry, **3**, (2005), 3336-3347.
162. Kim, J.W. and Minamikawa, T., *Hydroxyl Radical-scavenging Effects of Spices and Scavengers from Brown Mustard (Brassica nigra)*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, **61**, (1997), 118-123.
163. Pelletier, J.C., Chengalvala, M., Cottom, J., Feingold, I., Garrick, L., Green, D., Hauze, D., Huselton, C., Jetter, J., Kao, W., Kopf, G.S., Lundquist, J.T.t., Mann, C.,

- Mehlmann, J., Rogers, J., Shanno, L., and Wrobel, J., *2-phenyl-4-piperazinybenzimidazoles: orally active inhibitors of the gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **16**, (2008), 6617-6640.
164. Nagasaka, T. and Koseki, Y., *Stereoselective Synthesis of Tilivalline(1)*. *Journal of Organic Chemistry*, **63**, (1998), 6797-6801.
165. Wolozin, B., Kellman, W., Ruosseau, P., Celesia, G.G., and Siegel, G., *Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors*. *Archives of Neurology*, **57**, (2000), 1439 - 1443.
166. Richon, A.B., *An Introduction to Molecular Modeling*. *Mathemath*, **183**, (1994).

## Résumé de la thèse

Les maladies neurodégénératives et en particulier la maladie d'Alzheimer constituent le type le plus courant de démence dans la population âgée.

Du point de vue neuropathologique, plusieurs facteurs seraient à l'origine de ces pathologies. Le stress oxydant et le déficit cholinergique correspondent aux principales causes de ces maladies.

Au cours de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la synthèse et à l'évaluation biologique de nouveaux composés antioxydant et inhibiteur potentiel de l'acétyl et la butyryl cholinestérase. La synthèse de ces molécules repose sur la présence d'un noyau quinoléique. Le choix de cet hétérocycle découle de ses propriétés biologiques dans des domaines très variés et également sur des études antérieures réalisées par le laboratoire.

Ce travail comporte quatre volets correspondant à quatre séries de composés quinoléiques.

- Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamides
- Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides
- Les dihydropyrimidoquinoléines
- Les pyrazoloquinolinones

Une quarantaine de nouvelles molécules hétérocycliques ont ainsi été synthétisées. La stratégie de synthèse des dihydropyrimidoquinoléines s'appuie sur une étape clé qui est la réaction de Biginelli. C'est une réaction « one pot » et multi-composant permettant un accès facile et rapide au noyau quinoléique. Les autres séries reposent sur des stratégies multi-étapes à partir de l'anhydride isatoïque et ses dérivés.

L'activité biologique de ces différentes familles a été réalisée.

- Les 1,2-dihydroquinoléine-3-carboxamide et les 1,2-dihydroquinoléine-3-carbohydrazides ont été testés comme antioxydant, chélateur de métaux et inhibiteurs d'acétyl et butyrylcholinestérase. Une corrélation entre le pharmacophore et les résultats des tests physico-chimiques a également été réalisée.
- Les dihydropyrimidoquinoléines et les pyrazoloquinolinones ont été testés comme inhibiteur potentiel des cholinestérases.

La modélisation moléculaire de chacun des composés a été faite afin de mettre en évidence les différentes interactions existantes avec l'acétylcholinestérase. Ceci dans le but d'optimiser la structure des molécules obtenues.

**Mots clés :** maladie d'Alzheimer, réaction de Biginelli, réaction de Niementowski, Antioxydants, chélateur de métaux, inhibiteur d'acétylcholinestérase

---

## Abstract

Neurodegenerative's diseases and especially Alzheimer's disease are the most common forms of senile dementia. From the neuropathological point of view several factors could be at their origin. The oxidative stress and the deficit cholinergic are main causes of this disease

During this thesis we were interested in the synthesis and the biological assessment of new compounds as antioxydant and cholinesterase inhibitors. These compounds contain a quinoline nucleus. The choice of this heterocycle derives from its biological properties in very varied fields and also from the studies made previously in our laboratory.

Work comprises four sections connected with four series of quinolines derivates :

- 1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides
- 1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazides
- Dihydropyrimidoquinolines
- Pyrazoloquinolinones

Forty new compounds have been synthesized. Dihydropyrimidoquinolines were prepared by application of the Biginelli reaction. This « one-pot » and multi-compounds reaction leads easily and fastly to quinolines nucleus. The other series were prepared in a multi-step strategy from isatoic anhydride and its derivates. Biological assessments was then estimated.

- 1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides and 1,2-dihydroquinoline-3-carbohydrazides were tested as antioxydant, metal chelators and cholinesterase inhibitor. We used for these compounds an approach pharmacophore based design.
- Dihydroquinolines and pyrazoloquinolinones were tested as cholinesterase inhibitors.

The docking of every active compounds have been done and shown interactions between compounds and the enzyme.

**Keywords :** Alzheimer's disease, Biginelli's reaction, Niementowski's reaction, antioxydants, metal chelators, acétylcholinestérase's inhibitors