

# Les quinolones antibactériennes : de l'acide nalidixique à la péfloxacine

M. Barreau \*  
F. Roquet \*\*

C'est en 1949 que J.R. Price et coll. ont, pour la première fois, décrit une molécule du type "quinolone". Il s'agissait d'un produit de dégradation d'alcaloïdes n'ayant pas d'activité biologique connue à l'époque. Douze ans plus tard, N. Barton et coll. brevetaient comme antibiotiques plus de 80 molécules de cette famille, mais aucune ne devait donner naissance à un produit utilisé en thérapeutique. C'est seulement en 1962, que G.Y. Lesher et coll. décrivent l'acide nalidixique (figure 1).

Née presque par hasard, cette famille allait de plus bénéficier d'une dénomination incorrecte : l'acide nalidixique est en effet une naphtyridine 1,8 et les molécules plus récentes dérivent d'autres structures (figures 1 et 2), dont effectivement les oxo dihydro-1,4 quinoléines, dénomination qu'un usage abusif, mais irréversible, a transformée en "quinolones". C'est à Albrecht que l'on doit la première revue générale sur le sujet [1]. Plus récemment, les conférences qui ont été présentées sur ce thème aux Journées de l'Hôpital Claude Bernard consacrées aux problèmes actuels de pathologie infectieuses et de réanimation, en 1985, ont été réunies et publiées [2].

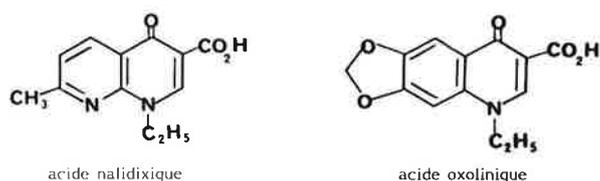


FIGURE 1.

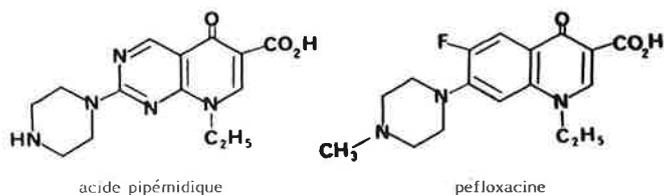


FIGURE 2.

## Les quinolones et le Laboratoire Roger Bellon

En 1968, apparaît l'acide oxolinique (figure 1) qui présentait de gros avantages sur l'acide nalidixique. Alors qu'on aurait pu

avoir l'impression que ce dernier constituait un "phénomène chimique", il n'en était rien.

Le danger était assez grand pour le Laboratoire Roger Bellon, qui venait de prendre pied dans le marché des antimicrobiens urinaires grâce à la mise au point de la colimycine, de se voir supplanter sur ce terrain par des produits de synthèse relativement aisée.

L'acide nalidixique et l'acide oxolinique ont en commun d'être actifs sur la plupart des germes "Gram négatif" (à l'exception de *Ps. aeruginosa* et de *Bactéroïdes*), mais les germes "Gram positif" (tels que les streptocoques et les staphylocoques) leur sont résistants. Par ailleurs, ces produits sont fortement métabolisés en métabolites inactifs, ce qui explique leur emploi presque exclusif dans les maladies des voies urinaires.

Les travaux entrepris à partir de 1969 au Laboratoire Roger Bellon avaient deux objectifs :

- élargir le spectre d'action,
- permettre le traitement des affections systémiques, ce qui suppose de remplir au moins les conditions suivantes :

- passage dans la circulation générale après prise orale,
- faible métabolisation,
- concentrations urinaires et sanguines suffisantes pendant un temps prolongé,
- faible toxicité.

Ces travaux ont conduit à la synthèse de plus de 1500 produits (au sein de 30 séries chimiques différentes) dont deux ont donné naissance à des médicaments : l'acide pipémidique d'abord, et la péfloxacin ensuite (figure 2).

## La chimie des quinolones

Toutes les quinolones réputées actives présentent, sur le plan chimique, la structure suivante : cycle pyridone-4 carboxylique-3 accolé à un autre cycle aromatique qui peut être variable par sa nature ou ses substituants. De plus, l'azote du cycle pyridone doit porter un substituant.

De ce fait, la synthèse des quinolones repose essentiellement sur la création de ce cycle à partir d'un substrat aromatique convenablement substitué, cette étape-clé pouvant être éventuellement suivie de réactions de substitution, soit à l'azote du cycle pyridine, soit au niveau des substituants du deuxième cycle aromatique pour peu que ce dernier soit suffisamment activé (figure 3).

Suivant la nature des substituants X, Y et, éventuellement, Z, il existe trois grandes méthodes de synthèse du cycle pyridone.

\* Direction des Services de recherches chimiques et \*\* Direction des Services de recherches pharmacologiques et toxicologiques, Rhône-Poulenc Santé, Laboratoire Roger Bellon.

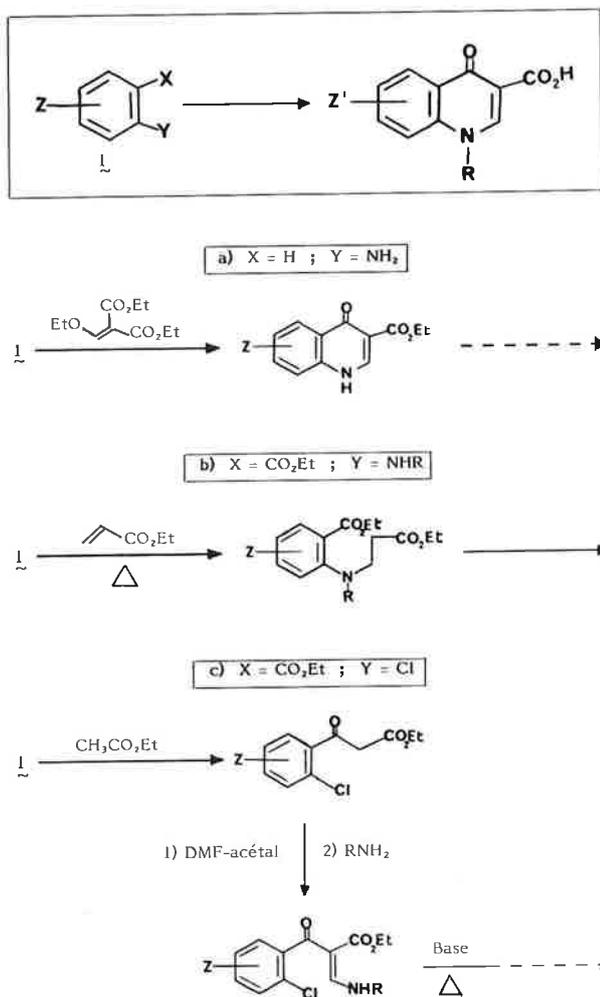


FIGURE 3.

La première (figure 3) consiste à faire réagir une amine aromatique avec l'éthoxy méthylène malonate d'éthyle et à cycliser thermiquement le produit obtenu.

L'inconvénient de ce schéma de synthèse apparaît très nettement : en dehors du fait que les conditions de cyclisation sont sévères et pas toujours compatibles avec le reste 2 ou la nature du cycle aromatique, il va de soi que si les substituants Z ne sont pas disposés symétriquement par rapport à l'amine ou n'exercent pas un fort effet orienteur, on obtient un mélange de produits. De plus, il peut arriver que la nature du cycle aromatique rende ces réactions complètement impraticables.

Enfin l'étape suivante est dans ce cas une alkylation à l'azote de la pyridone qui n'est généralement pas univoque, lorsqu'il existe plusieurs sites d'alkylation.

Les deux autres méthodes (figure 3, b et c) permettent de s'affranchir de ces problèmes, puisque les deux substituants qui vont être impliqués dans la construction du cycle pyridone, ainsi que le substituant à l'azote sont déjà positionnés.

En conclusion, les réactions chimiques qui sont mises en jeu pour synthétiser le cycle pyridone sont très classiques et, en fait, c'est souvent en amont que se pose le problème.

En effet, la matière première est un cycle aromatique qui doit être polysubstitué de façon convenable, ce qui n'est pas toujours facile à réaliser.

Certes, ce sont, en général, des réactions simples telles que halogénations, nitrations, réductions, réactions diazoïques, mais encore faut-il les réaliser de façon univoque.

## De l'acide nalidixique à l'acide pipémidique

Dans un premier temps, les chimistes du LRB examinèrent différentes variations structurales autour de l'acide nalidixique en modifiant la position des groupes fonctionnels ou en les remplaçant par des groupes fonctionnels réputés équivalents quant aux propriétés physico-chimiques qu'ils possèdent ou qu'ils confèrent à la molécule qui les supporte (figure 4).

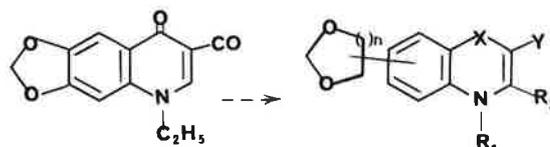


FIGURE 4.

Les produits s'avèrent inactifs ou peu actifs, ce qui, avec le recul que nous avons maintenant, n'est pas étonnant. En effet, il a été montré, au travers de nombreuses séries chimiques qui ont été travaillées de par le monde, que l'enchaînement fonctionnel alkyl-1 pyridone-4 carboxylique-3 est crucial pour l'émergence de l'activité antibactérienne. D'autre part, il semblait que le maximum d'activité était obtenu quand l'azote de la pyridine était substitué par un groupement éthyle. En ce qui concerne ce dernier point, des résultats plus récents ont montré que ce n'était pas toujours exact [1, 2].

Tenant compte de cette "règle" et du fait que la nature du cycle accolé à la pyridone pouvait être soit une pyridine (acide nalidixique), soit un benzène (acide oxolinique), les chimistes firent l'hypothèse qu'il pouvait exister d'autres cycles aromatiques dont l'accouplement au cycle pyridone exalterait les propriétés antibactériennes de l'ensemble (figure 5).

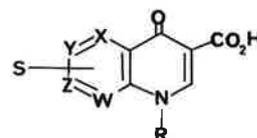


FIGURE 5.

Après avoir successivement testé des produits appartenant à plusieurs familles chimiques qui durent être abandonnées en raison de l'impossibilité d'aboutir à des produits d'intérêt potentiel convaincant, les chimistes prirent connaissance d'une publication de Sterling qui revendiquait des propriétés antibactériennes pour des naphtyridines-1,6 diversement substituées en position 7. La combinaison de ce cycle avec celui de la naphtyridine 1,8 de l'acide nalidixique conduit à la pyrido [2,3-d] pyrimidine, structure qui autorise également des variations de substitution en position 7 (figure 6).

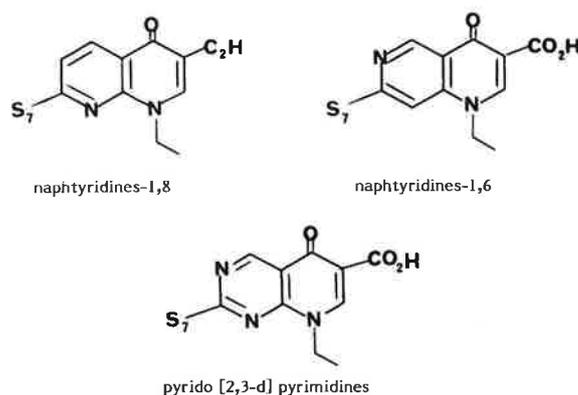
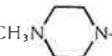
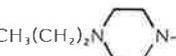


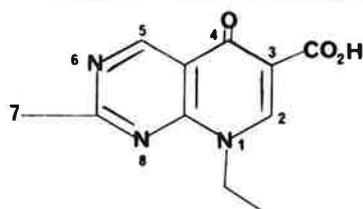
FIGURE 6.

Il apparut rapidement que ce nouveau système hétérocyclique avait un potentiel intéressant. Le procédé de synthèse convergent qui avait été mis au point par les chimistes autorisait un grand nombre de variations en position 7. C'est donc dans cet axe que fut entrepris le développement de cette série chimique.

Le tableau 1 montre les activités antibactériennes *in vitro* d'un échantillonnage représentatif de 220 composés qui ont été préparés dans cette famille chimique.

TABLEAU 1. - Concentrations minimales inhibitrices *in vitro* des dérivés pyrido-pyrimidiques.

S <sub>7</sub>	S. Aureus	E. Coli.	P. Aerug.	Entrée
CH <sub>3</sub> S-	50	12,5	100	1
	6,2	3,1	> 100	2
	1,6	6,2	50	3
H	> 100	> 100	> 100	4
	6,2	0,8	12,5	5
	3,1	0,8	12,5	6
	6,2	50	100	7



De ce tableau ressort que :

- un substituant azoté a un effet favorable (entrées 1 et 4 vs entrées 2, 3, 5, 6, 7),
- le cycle pipérazine induit l'activité maximale (entrées 5 et 6 vs entrées 2 et 3),
- les substituants les meilleurs sur la pipérazine sont H et CH<sub>3</sub> (entrées 5 et 6 vs entrée 7).

Par ailleurs, bien que ce point ne soit pas illustré ici, les résultats obtenus dans cette famille confirmaient un certain nombre d'observations faites avec d'autres séries chimiques quant aux relations structure-activité.

- Présence indispensable du cycle carboxylique.
- Effets défavorables des substitutions en 2 et en 5.
- Activité optimale avec un substituant éthyle en 1.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, certaines de ces affirmations peuvent paraître aujourd'hui un peu péremptaires.

Il apparut rapidement que la pharmacocinétique, la distribution et le métabolisme des produits des entrées 5 et 6 permettaient d'envisager leur utilisation dans les traitements des infections microbiennes de la sphère uro-génitale.

Pour des raisons dont l'exposé sort du cadre de cet article, ce fut le produit 5 qui fut sélectionné par des études cliniques et ensuite

commercialisé sous le nom de Pipram (DCI : acide pipémidique).

A peu près pendant la même période, les chercheurs de Dainippon, partant de la structure de l'acide piromidique (tableau 1, entrée 3), arrivaient aux mêmes résultats. Cependant, Roger Bellon, grâce à la mise en œuvre d'un procédé de synthèse plus efficace et plus convergent que celui utilisé par Dainippon, avait breveté l'acide pipémidique 12 jours avant son concurrent.

L'acide pipémidique présentait des avantages certains sur les produits disponibles à l'époque, en particulier grâce à de fortes activités sur les souches résistantes à l'acide nalidixique (notamment les *Ps. aeruginosa*) à une métabolisation plus faible que celle de l'acide oxolinique et surtout grâce à la propriété de donner des concentrations urinaires élevées. En revanche, les taux sanguins paraissent insuffisants pour traiter les affections systémiques.

De ce fait, l'objectif fixé n'était que partiellement atteint ; toutefois, cette première étape est importante à plus d'un titre :

- l'acide pipémidique a permis d'accomplir un réel progrès dans le traitement des infections urinaires,
- l'étude des produits de cette famille a permis de mettre en évidence l'importance d'un hétérocycle azoté, et plus particulièrement de la pipérazine en position 7 de la quinolone,
- enfin, une collaboration active s'est mise en place entre le L.R.B. et Dainippon.

## De l'acide pipémidique à la péfloxacin

Encouragé par ce premier succès, les chimistes persévèrent dans l'idée que, puisque qu'il existait des quinolones antibactériennes avec une structure quinoléine, naphtyridine et pyridopyrimidine, il pouvait bien y avoir d'autres systèmes hétérocycles dignes d'intérêt.

Il semble d'ailleurs, au vu des résultats publiés ultérieurement, que, à la même époque, d'autres laboratoires aient suivi la même démarche.

Les chimistes explorèrent sans succès significatifs de nombreuses séries chimiques qu'il est superflu de présenter ici.

Citons, juste pour l'exemple, la démarche qui avait permis de sélectionner la pyridopyrimidine et qui consistait à fusionner deux systèmes hétérocycliques réputés actifs : elle a conduit à la préparation de pyrido [2,3-e] as triazines qui se sont avérées dépourvues de toute activité antibactérienne (figure 7).

C'est au vu de tous ces échecs qu'un retour aux sources fut décidé et il semble bien encore une fois que la même stratégie ait été suivie par d'autres laboratoires à peu près à la même époque et vraisemblablement pour les mêmes raisons.

Les sources étaient donc l'acide oxolinique, c'est-à-dire la famille des quinoléines et l'acide nalidixique, c'est-à-dire la famille des naphtyridines.

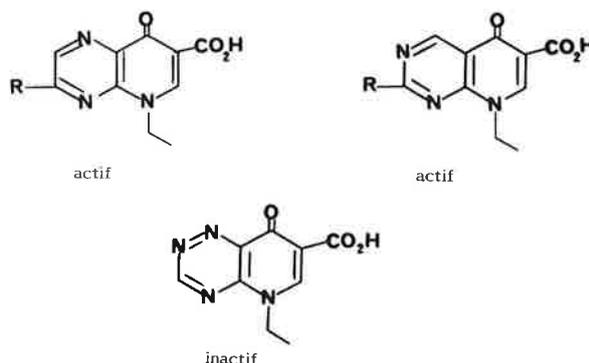


FIGURE 7.

Pour différentes raisons, le LRB décida de travailler la famille des quinolones.

Partant de la structure de l'acide oxolinique, les produits suivants, dans lesquels un atome d'oxygène a été remplacé par un groupement amino situé en position 7 comme dans l'acide pipéridique, ont été synthétisés. Ils se sont avérés inactifs. Ceci pouvait paraître d'autant plus surprenant que le dérivé non substitué en 6 manifeste une activité significative (figure 8).

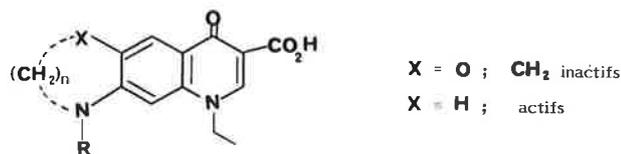


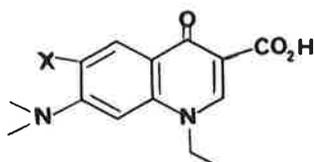
FIGURE 8.

Une explication plausible de ces résultats pouvait être la suivante. L'acide oxolinique a deux substituants oxygénés sur le noyau benzénique. L'un en para du carbonyle exerce un effet  $\pi$  donneur, alors que celui en méta exerce un effet  $\sigma$  attracteur. En remplaçant l'oxygène en para du carbonyle par un azote, on augmente l'effet  $\pi$  donneur sans modifier l'effet  $\sigma$  attracteur. De ce fait, la densité électronique sur le bicyclic se trouve être plus grande que ce qu'elle est dans l'acide oxolinique.

Si cette hypothèse était exacte, un substituant plus électroattracteur en méta du carbonyle devait rétablir la bonne distribution électronique.

Comme on le constate sur le tableau 2, qui présente une sélection de produits choisis parmi la centaine qui ont été préparés, cette hypothèse s'avérera exacte. On remarque l'influence négative des groupes électroattracteurs puissants (entrée 7) ou de groupes

TABLEAU 2. - Concentrations minimales inhibitrices in vitro dans la série oxolinique.



X	N	S. Aureus	E. Coli.	P. Aerug.	Entrée
Cl		0,4	0,8	6,2	1
F		0,2	0,1	0,8	2
F		0,2	0,2	0,4 - 0,8	3
Br		1,6	1,6	50	4
CH <sub>3</sub> O		50	25	> 100	5
F		0,2	3,1	6,2	6
NH <sub>2</sub> SO <sub>2</sub>		> 100	> 100	> 100	7

donneurs (entrée 5), alors que les halogènes se situent dans la bonne moyenne et induisent de ce fait de fortes activités antimicrobiennes (entrées 1 et 2).

Par ailleurs, on constate que l'activité optimale est obtenue avec comme substituant en 7 une pipérazine ou une méthylpipérazine (entrées 2 et 3 vs entrée 6).

Il est bien évident que la lecture d'un antibiogramme aussi complet soit-il n'est pas un critère de sélection suffisant, et que, par exemple, il est pratiquement impossible de distinguer les produits des entrées 1, 2 et 3 sur cette seule base.

C'est donc sur d'autres critères pharmacologiques et pharmacocinétiques que les chercheurs du LRB sélectionnèrent le produit de l'entrée 2 pour des expérimentations cliniques qui confirment l'intérêt de ce produit dans le traitement des infections systémiques. Il est maintenant commercialisé sous le nom de Péfloxacin (DCI péfloxacin).

L'importance de cette étape d'évaluation sur la base de critères pharmacologiques et pharmacocinétiques est considérable, si on pense que, à peu près au même moment, Kyorin arrivait, à l'issue d'un énorme travail de QSAR [3], à des résultats tout à fait similaires en terme d'activité antimicrobienne, et sélectionnait la norfloxacin (entrée 3) en omettant de breveter son homologue méthylé.

## La péfloxacin : une biodisponibilité remarquable

Les études pharmacocinétiques réalisées chez différentes espèces animales ont rapidement montré l'intérêt de la péfloxacin qui se caractérise par une biodisponibilité totale après administration orale et une diffusion tissulaire remarquable, tant par voie orale que par voie injectable [4].

Ces caractéristiques ont été confirmées chez l'Homme. En effet, la comparaison des aires sous la courbe des concentrations plasmatiques après administration orale ou intraveineuse indique que la biodisponibilité de la péfloxacin se situe entre 80 et 90 % et les dosages pratiqués dans différents tissus (peau, tissus de la sphère ORL, os, valvules cardiaques, prostate) ont montré une imprégnation tissulaire importante préjugant favorablement son activité dans des infections sévères où beaucoup d'antibiotiques s'avèrent inefficaces en raison de leur faible capacité à atteindre les compartiments profonds.

La pénétration de la péfloxacin dans le cerveau est également intéressante : bien qu'inférieur à celui atteint dans d'autres organes, le taux de péfloxacin dans le liquide céphalo-rachidien est suffisant pour être bactériologiquement efficace, mais insuffisant pour faire craindre des effets secondaires centraux indésirables.

Le troisième point positif de la péfloxacin est sa faible liaison aux protéines plasmatiques (20 à 30 %) qui minimise le risque d'interactions médicamenteuses lorsqu'elle est associée à d'autres agents thérapeutiques.

Le péfloxacin est fortement métabolisée dans l'organisme. Parmi ses métabolites majeurs, le dérivé N-diméthylé, présent en quantité appréciable dans les urines, possède également des propriétés antibactériennes.

Le succès thérapeutique de la péfloxacin est la résultante de ses propriétés antibactériennes et de son profil pharmacocinétique particulièrement favorable.

## Mécanisme d'action des quinolones

La parenté structurale des quinolones leur a fait, sans doute à tort, attribuer un mode d'action unique. De même, la résistance croisée entre ces différentes molécules tend à donner de ce

groupe une image homogène. Cependant, au niveau quantitatif, il existe d'importantes différences entre les produits.

Ceci est sans doute le reflet d'un mode d'action complexe, mais il semble cependant, qu'un des événements fondamentaux soit l'inhibition de la réplication de l'ADN.

Cette inhibition implique une enzyme, la DNA gyrase ou topoisomérase II, dont nous allons expliquer brièvement le rôle (pour une information plus complète voir [2], réf. citées).

Chez les procaryotes, l'ADN existe sous forme d'un double brin circulaire, ce qui représente, au plan topologique, des avantages, mais aussi des inconvénients.

Il a été montré que l'état topologique de l'ADN et des enzymes qui le gouvernent joue un rôle fondamental sur les fonctions cellulaires. En particulier, les molécules d'ADN circulaires peuvent stocker l'énergie sous forme de tension acquise lors des modifications topologiques, et notamment lors du compactage pendant le processus de surenroulement. Cette énergie pourra être utilisée par la suite dans des processus thermodynamiques peu favorables, tels que la séparation de brins lors de la réplication, l'expression génétique ou les recombinaisons génétiques. Le revers de la médaille est que les molécules d'ADN compactées peuvent former des nœuds ou des caténanes durant ces processus, ce qui est une situation incompatible avec la ségrégation des brins lors de la division cellulaire.

On peut voir, sur la figure 9, une modélisation du processus d'accumulation d'énergie par surenroulement.

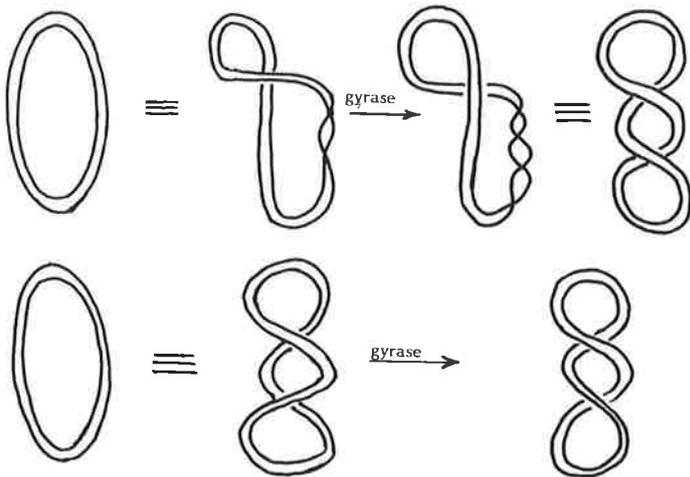


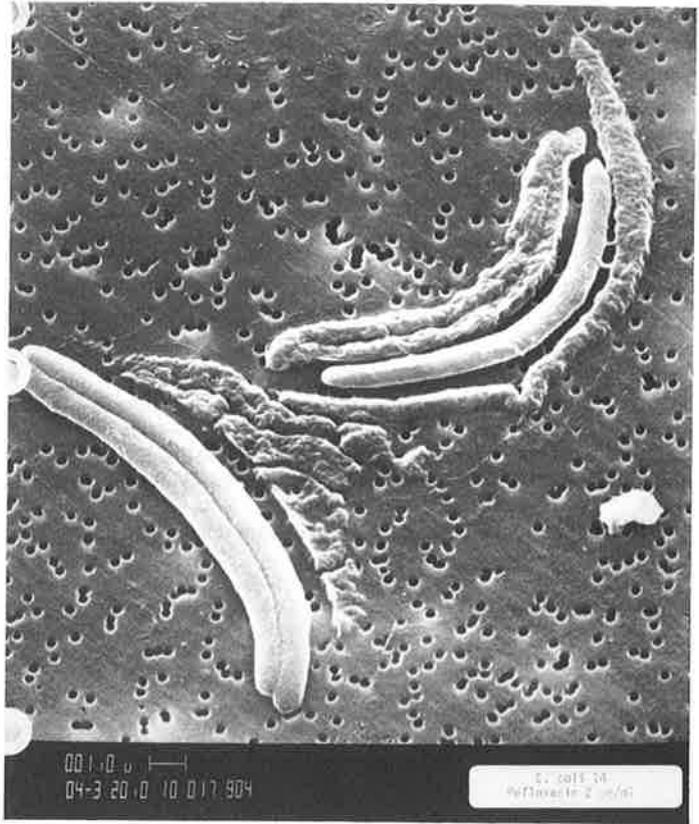
FIGURE 9.

Si on rabat une partie de l'ADN double brin sur l'autre, on crée une tension locale de la double hélice. Puis, si on croise les deux brins et que l'on redéploie pour reformer un cercle, on augmente cette tension locale qui peut se répartir sur tout l'ADN circulaire s'il adopte une structure surenroulée.

Si on rabat deux fois une partie de l'ADN circulaire sur l'autre, mais une fois à droite, puis une fois à gauche, on ne modifie pas l'état énergétique, les tensions s'annulant. En revanche, si on fait passer un des doubles brins à travers l'autre, on obtient le même cas de figure que précédemment avec un surenroulement positif ou négatif suivant le brin qu'on a fait passer.

La DNA gyrase a été caractérisée, en 1976, comme l'enzyme introduisant ces modifications topologiques. Chez *E. coli*, elle est tétramérique et comporte deux sous-unités GYR A et deux sous-unités GYR B qui sont respectivement les cibles de l'acide nalidixique et de la novobiocine. Les réactions catalysées par la gyrase sont illustrées par la figure 10 :

– création de supertours négatifs. Cette réaction exige de l'ATP et elle est inhibée par l'acide nalidixique et la novobiocine ;



Action de la péfloxacin sur *Escherichia coli*. On observe sur ce cliché remarquable diverses étapes de la lyse de la bactérie sous l'influence de l'antibactérien.

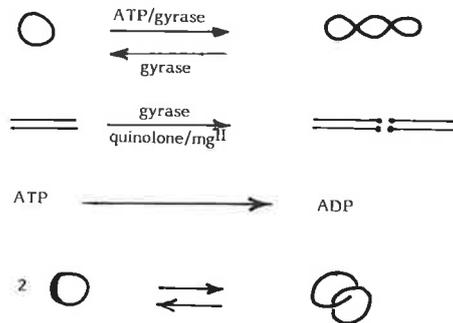


FIGURE 10.

– relâchement de l'ADN superenroulé en l'absence d'ATP, réaction sensible au seul acide nalidixique ;

– coupure de double brin en l'absence d'ATP, mais en présence de quinolone et de magnésium ;

– hydrolyse de l'ATP ; l'ADN est exigée et la réaction est sensible à la novobiocine ;

– et enfin, caténation, décaténation.

Plusieurs points semblent indiquer que la gyrase n'est pas la seule cible des quinolones.

En effet, s'il a été montré que la novobiocine est un inhibiteur de l'activité ATP-asiq localisée sur la gyrase B, et si une bonne corrélation existe entre les CMI de ce produit et son aptitude à inhiber le surenroulement de l'ADN, il n'en est pas de même avec les quinolones. En particulier, il a été montré qu'il existe une nette distorsion entre les quantités de péfloxacin qui inhibent l'ADN gyrase et les CMI obtenues avec ce produit ([2], réf. 19).

Dans l'état actuel, quatre hypothèses peuvent être avancées :

– ou bien l'affinité des nouvelles quinolones pour la gyrase est considérablement meilleure que celle de l'acide nalidixique,  
– ou bien leur pénétration dans la bactérie est plus aisée,  
– ou bien elles agissent certes sur la gyrase, mais admettent aussi une autre cible dans ou sur la bactérie,

– ou encore la gyrase est leur unique cible, mais d'autres mécanismes que ceux mis en évidence avec l'acide nalidixique doivent être impliqués pour rendre compte de leur activité.

Les réponses à ces questions permettront peut-être de déboucher sur des quinolones encore plus performantes.

## Bibliographie

[1] Albrecht (R.), Development of antibacterial agents of nalidixic type, *Progress in drug research*, **1977**, *21*, 9-104.

[2] Les nouvelles quinolones publiées sous la direction de J.-J. Pocidalo, F. Vachon et B. Régnier, Editions Arnette, Paris, **1985**.

[3] Fujita (T.), The role of QSAR in drug design p. 19, in : Pro-

ceeding of the 3rd RP Round Tables Conferences Drug Design Tad of Fantasy (G. Jolles et K.R.H. Woolridge Eds.), Academic Press, Orlando (Floride), **1984**.

[4] Montay (G.), *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **1984**, *25*, n° 4, 463-472.

# ANALUSIS

**Vous êtes chimiste, vous êtes analyste :**

Vous qui recherchez une documentation spécialisée,  
une revue vous est destinée, il s'agit d'**ANALUSIS**

Chaque année vous pourrez y consulter quelques 800 pages de mémoires scientifiques répartis en 10 numéros. C'est pour vous, la documentation sélectionnée indispensable à votre vie professionnelle.

Les adhérents de la Société Française de chimie, de la Société de Chimie Industrielle et du GAMS peuvent bénéficier de conditions particulières pour s'abonner à ce périodique.

*Tous renseignements chez l'Éditeur :*

**SOCIÉTÉ DE CHIMIE INDUSTRIELLE  
SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE CHIMIE  
250, rue Saint-Jacques, 75005 PARIS  
Tél. : 325.20.78**