

N° d'ordre : 13/2013 – M/CH

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
HOUARI BOUMEDIENE (USTHB) ALGER  
FACULTE DE CHIMIE



## **MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER  
EN CHIMIE**

**Spécialité : Chimie Organique Appliquée**

par : **M<sup>r</sup> CHERFAOUI BRAHIM**

### **Sujet:**

**Réactivité des 1,3-dicétones: Accès à des structures  
hétérocycliques azotées et recherche de propriétés  
biologiques.**

Soutenu publiquement, le 12 / 02 /2013, devant le jury composé de :

<b>M<sup>me</sup> Bellara KOLLI :</b>	Professeur à l'U.S.T.H.B	Présidente
<b>M<sup>me</sup> Norah BENNAMANE:</b>	Maitre de Conférences(A) à l'USTHB	Directrice du mémoire
<b>M<sup>me</sup> Djamila HALLICHE :</b>	Professeur à l'USTHB	Examinatrice
<b>M<sup>r</sup> Y. FOUJIL CHERIF :</b>	Professeur à l'USTHB	Examineur
<b>M<sup>me</sup> Samira Merabtene :</b>	Chef d'unité à l'institut Pasteur d'Alger	Invitée

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes très chers parents*

*Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour tous vos sacrifices et pour m'avoir soutenu pendant toutes mes études.*

*Je vous remercie vivement pour votre aide, encouragements, mais aussi votre gentillesse et amour.*

*Je mets entre vos mains, le fruit de longues années d'études.*

*A mon frère Abdelatif*

*A mes sœurs Zineb, Aicha et au petit billel.*

*A ma grand-mère, mes tantes et oncles en particulier Tiab*

*A mes cousins et cousines.*

*A tous mes amis (es) amine, lyes, adlan, leila, Sofiane, fatma, imen, abdelhak.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

## REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Chimie Organique Appliquée, à la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, dirigé par Madame le Professeur Bellara Nedjar-Kolli.

J'exprime ma sincère gratitude à Madame le Professeur Bellara Nedjar-Kolli pour m'avoir accueilli au sein de son groupe, pour sa disponibilité et ses conseils avisés. Je la remercie également pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de thèse, Madame Norah Bennamane maître de conférences A à l'U.S.T.H.B pour avoir enrichi ma formation par ses conseils précieux et judicieux. Je la remercie aussi pour ses qualités humaines, sa disponibilité et ses encouragements qui ont permis l'aboutissement de ce travail.

Madame Djamila Halliche Professeur à l'U.S.T.H.B, me fait l'honneur de juger ce travail, qu'elle reçoive l'assurance de mes sincères remerciements.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur Yazid Foudil Cherif professeur à l'U.S.T.H.B pour avoir accepté d'examiner ce travail et de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.

Mes remerciements vont également à Madame Merabtène chef d'unité du service milieu de cultures de l'institut Pasteur d'Algérie, d'avoir accepté avec amabilité de réaliser les tests microbiologiques sur nos molécules, et qui a bien voulu participer à ce jury.

Je remercie particulièrement H. Lakhdari pour l'aide et le soutien qu'elle m'a apporté durant mon travail. Ce mémoire n'aurait pas pu être mené à bien sans les membres du laboratoire qui ont su créer une bonne ambiance et avec lesquels j'ai échangé des discussions constructives. Pour cela, je remercie également L. Hammal, S. Bouzroua, Noura, Rachid, Yasmina, Saliha, Lydia, Wassila, Rosa, Nadia, samira et Rafik.

Pour terminer, tous mes remerciements à ce qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**°C** : Degré Celsius.

**<sup>1</sup>H**: Proton.

**AcOEt** : Acétate d'éthyle

**ADN** : L'acide désoxyribonucléique.

**Ar** : Aryle.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**coll** : Collaborateurs.

**d** : Doublet.

**DABCO** : 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane.

**DBU**: 1,8-Diaza Bicyclo[5.4.0] Undéc-7-ène.

**DHA** : Acide déhydroacétique.

**DMA-DMA**: N,N-diméthylacetamide diméthyle acétal.

**DMF-DMA** : N,N-diméthylformamide diméthylacétal.

**éq** : Equivalent.

**ESI** : Electrospray ionisation.

**Et** : Ethyle.

**EtOH**: Ethanol.

**Eu (hfc)<sub>3</sub>**: L'euporium tris 3 - (heptafluoropropylhydroxyméthylene) - (+)-camphorate.

**g** : Gramme.

**gram<sup>-</sup>** : Gram négatif.

**gram<sup>+</sup>**: Gram positif.

**h**: heure.

**Hz**: Hertz.

**IC** : ionisation chimique.

**IR**: Infrarouge.

**J** : Constante de couplage.

**m** : Multiplet.

**Me** : Méthyle.

**MEM**: Methoxy Ethoxy Méthyle.

**MeOH**: Méthanol.

**MHz** : Méga Hertz.

**min** : Minutes.

**ml** : Millilitre.

**mmole** : Millimole.

**MO** : Micro-ondes.

**Ph** : Phényle.

**ppm** : Partie par million

**q**: quadruplet.

**R** : Alkyle.

**R X** : Rayons X

**Rdt** : Rendement.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**s** : Singulet.

**Sc(OTf)<sub>3</sub>**: Trifluorométhanesulfonate de scandium.

**SM** : spectrométrie de masse.

**T.a** : température ambiante.

**T<sub>f</sub>** : Température de fusion.

**TFA** : Acide trifluoroacétique

**THF**: Tétrahydrofurane.

**TMS** : Tétraméthylsilane.

**δ**: Déplacement chimique.

## Notes techniques

### Résonance Magnétique Nucléaire :

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés à la température ambiante sur les spectromètres: Brüker Avance II (400 MHz) et Brüker Avance AC 300 (300 MHz).

Les déplacements chimiques sont donnés en échelle  $\delta$  et exprimés en partie par million (ppm), le TMS étant utilisé comme référence interne ( $\delta = 0$ ). Les spectres sont enregistrés dans le chloroforme deutéré  $\text{CDCl}_3$  ou le diméthyle sulfoxyde deutéré  $\text{DMSO-}d_6$ .

### Spectrométrie de masse :

Les spectres de masse ont été réalisés par Electrospray ionisation en mode positif (ESI) sur un spectromètre Perkin-Elmer SCIEX API 300.

### Spectroscopie Infra Rouge :

L'analyse IR a été réalisée sur un Spectromètre Perkin-Elmer (Paragon1000). Les produits sont greffés sur des pastilles en KBr. Les fréquences d'absorption sont données en  $\text{cm}^{-1}$

### Point de fusion :

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil pour point de fusion à capillaire «Stuart Scientific Melting Points SMP1» et n'ont pas été corrigés.

### Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies analytiques (CCM) ont été effectuées sur des plaques Merck en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F  $_{254}$  (épaisseur 0,2 mm) et révélées par une lampe UV réglée sur une longueur d'onde  $\lambda = 254$  nm.

### Diffraction des rayons X :

Les mesures des intensités diffractées sont réalisées sur un diffractomètre Nonius Kappa CCD. La longueur d'onde utilisée est celle du molybdène ( $\lambda \text{K}\alpha = 0.71073$  Å).

### Les solvants et produits utilisés :

Le dichlorométhane est séché sur  $\text{CaH}_2$  sous agitation pendant quelques heures. Les solvants suivants ont été utilisés sans purification préalable :

(Éthanol-99.8%) ; (Méthanol-99,7%) ; (Chloroforme- 99.4%) ; (Diéthylethère- 99,5%)  
(Acétate d'éthyle-99,8%) ; (Acide Acétique 99,5%); (Dichlorométhane -99,5%).



# Sommaire

<b>Introduction Générale</b> .....	14
<b>Références bibliographiques</b> .....	16

Chapitre I  
Etude bibliographique

<b>I.1- Introduction</b> .....	18
<b>I.2- Rappels bibliographiques sur les énaminones et quelques hétérocycles à divers chainons</b> .....	18
<b>I.2.1-Les <math>\beta</math>-énaminones</b> .....	18
<b>I.2.1.1-Méthodes de synthèses des énaminones</b> .....	19
<b>I.2.1.1.1- Synthèse par chauffage classique</b> .....	19
<b>I.2.1.1.2- Synthèse sous micro-ondes</b> .....	22
<b>I.2.2- Réactivité des énaminones</b> .....	23
<b>I.2.2.1- Comportement nucléophile</b> .....	24
<b>I.2.2.2- Comportement électrophile</b> .....	25
<b>I.3- Intérêt biologique et synthèse des hétérocycles constituant les structures ciblées</b> ...	26
<b>I.3.1- Les Benzimidazoles</b> .....	27
<b>I.3.1.1- Intérêt biologique</b> .....	27
<b>I.3.1.2- Synthèse des benzimidazoles</b> .....	28
<b>I.3.2 -Les Pyrazoles</b> .....	30
<b>I.3.2.1- Intérêt biologique</b> .....	30
<b>I.3.2.2- Synthèse des pyrazoles</b> .....	32
<b>I.3.3- Les 2- Pyranones</b> .....	35
<b>I.3.3.1- Intérêt biologique</b> .....	35
<b>I.3.3.2- Synthèse des 2- Pyranones</b> .....	37
<b>I.3.4- Les Pyrrolidines</b> .....	38
<b>I.3.4.1- Intérêt biologique et chimique</b> .....	38
<b>I.3.4.2- Synthèse des Pyrrolidines</b> .....	39
<b>I.4- Rappels de quelques notions de microbiologie</b> .....	41
<b>I.4.1- Introduction</b> .....	41
<b>I.4.2- Description des bactéries</b> .....	41

I.4.3- Bactéries Gram négatif et Gram positif.....	42
I.4.3.1-Bactéries Gram négatif .....	42
I.4.3.2- Bactéries Gram positif .....	42
I.4.4- Description des champignons .....	43
I.4.5- Les antimicrobiens .....	43
I.4.5.1- Les antibiotiques .....	43
I.4.5.2- Les antifongiques .....	44
I.4.6 - Aperçu sur les techniques d'études in vitro du pouvoir antimicrobien .....	44
I.4.6.1- Technique d'étude en vapeur .....	45
I.4.6.2- Méthode de dilution .....	45
I.4.6.3- Méthode de dilution en milieu liquide .....	45
I.4.6.4- Méthode de dilution en milieu solide .....	46
I.4.6.5- Méthode de diffusion en milieu solide .....	47
I.4.7- Conclusion .....	48
I.5- Objectifs de ce travail .....	48
Références bibliographiques .....	52

## Chapitre II

### Réactivité des $\beta$ -énaminodimédones: Synthèse des structures benzimidazoles

II.1- Introduction .....	59
II.2- Synthèse des intermédiaires énamino-dimédones <u>94</u> , précurseurs du noyau Benzimidazole.....	59
II.3- Caractérisation des précurseurs <u>94</u> .....	60
II.4- Synthèse des benzimidazoles <u>95</u> .....	62
II.4.1- Réaction au reflux du solvant .....	62
II.4.2- Réaction sous irradiation aux micro-ondes .....	63
II.5- Caractérisation spectrale des structures benzimidazoles <u>95</u> .....	64
II.5.1- Spectroscopie IR .....	64
II.5.2- Spectroscopie de RMN .....	64
II.5.2.1- RMN du proton .....	64
II.5.2.2-RMN du carbone $^{13}\text{C}$ .....	65

II.5.3- Spectrométrie de masse .....	66
II.6- Proposition du mécanisme réactionnel .....	67
Conclusion .....	68
Partie expérimentale .....	69
Références bibliographiques .....	74

## Chapitre III

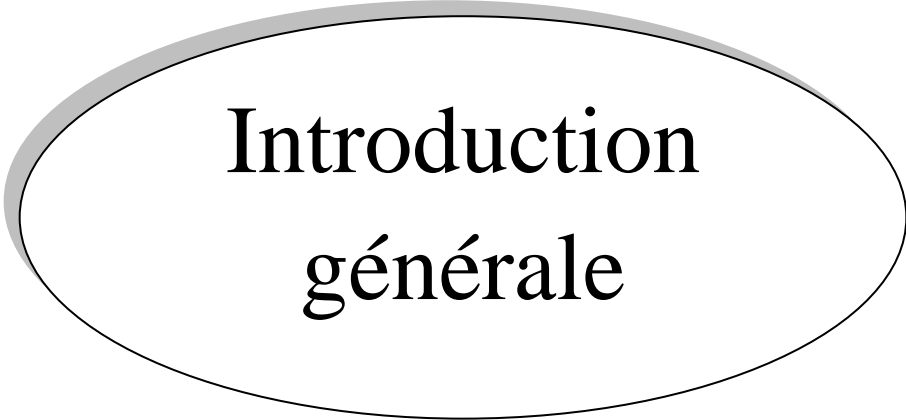
### Réactivité des $\beta$ -pyrazoloénaminones: Synthèse des structures Pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione

III.1- Introduction .....	76
III.2- Synthèse des précurseurs $\beta$ -pyrazoloénaminones <u>97</u> .....	76
III.3- Caractérisation spectrale des précurseurs <u>97</u> .....	77
III.3.1- Spectroscopie de RMN .....	77
III.3.1.1- RMN du proton .....	77
III.3.1.2- RMN du carbone $^{13}\text{C}$ .....	78
III.4 - Synthèse des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones <u>98</u> .....	78
III.5- Caractérisation spectrale des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones <u>98</u> .....	80
III.5.1- Spectroscopie IR .....	80
III.5.2- Spectroscopie RMN .....	80
III.5.2.1- RMN du proton .....	80
III.5.2.2- RMN du carbone $^{13}\text{C}$ .....	84
III.5.3- Spectrométrie de masse .....	85
III.5.4- Etude radiocristallographique.....	86
III.6- Proposition du mécanisme réactionnel .....	87
Conclusion .....	88
Partie expérimentale .....	89
Références bibliographiques .....	93

## Chapitre IV

### *Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des composés synthétisés*

<b>IV.1. Introduction</b> .....	95
<b>IV.2- Souches microbiennes étudiées</b> .....	95
<b>IV.2.1- Bactéries à Gram négatif</b> .....	96
<b>IV.2.2- Bactéries à Gram positif</b> .....	96
<b>IV.2.3- Champignons</b> .....	96
<b>IV. 3- Méthodes microbiologiques utilisées</b> .....	97
<b>IV3.1- Technique de diffusion sur milieu gélosé : L'Antibiogramme</b> .....	98
<b>IV.3.2-Technique de dilution en milieu solide</b> .....	100
<b>IV.4- Résultats et Discussions</b> .....	101
<b>Conclusion</b> .....	108
<b>Conclusion générale</b> .....	110
<b>ANNEXE</b> .....	113



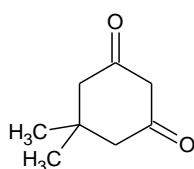
Introduction  
générale

## Introduction générale

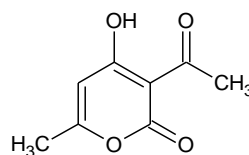
L'apport de la chimie hétérocyclique dans de multiples domaines est incontestable. En effet, les hétérocycles constituent l'architecture de base de nombreux composés naturels et synthétiques tels que les acides nucléiques et les alcaloïdes [1]. La chimie des médicaments leur est redevable de ses plus belles réussites [2]. Peu d'industries fines peuvent se passer des hétérocycles, celle des arômes, des parfums [3] et des colorants [4] leur doit beaucoup. Pour ces raisons, la recherche de nouvelles voies d'accès aux hétérocycles fonctionnalisés est donc toujours un sujet d'actualité.

Une des thématiques de recherche du laboratoire est la mise au point d'outils et de méthodologies pour la synthèse de composés hétérocycliques [5-7] à visée pharmaceutiques *via* la chimie des  $\beta$ -énaminones. Le travail de recherche du présent mémoire s'inscrit dans la continuité de cet axe et a pour objectif l'accès à la diversité structurale, avec une activité biologique potentielle.

Les benzimidazoles, les pyrazole, les 2-pyrone et les pyrrolidines sont des hétérocycles dont les propriétés biologiques diverses et variées sont reconnues dans le domaine de la chimie médicinale. Dans cette optique et afin d'accéder aux structures benzimidazoles et pyrazolopyranopyrrole ciblées, nous avons choisi d'utiliser comme matière première la dimédone (1,3-dicétone cyclique) et l'acide déhydroacétique (DHA), deux synthons hautement fonctionnalisés offrant diverses possibilités synthétiques.



Dimédone



Acide  
déhydroacétique

Le travail présenté dans ce mémoire est repartie en quatre chapitres :

Le chapitre un est un rappel bibliographique dans lequel nous avons présenté dans une première partie, la chimie des énaminones, notamment leurs préparations et leurs applications en synthèse organique. La deuxième partie décrit les principales méthodes de construction et les propriétés biologiques de quelques noyaux incluant les structures visées. La dernière partie rappelle quelques notions de microbiologie.

Dans un deuxième chapitre, nous présenterons la synthèse d'hétérocycles benzimidazoles et de leurs homologues 2-méthylbenzimidazoles à partir des énamino-dimédones et des aldéhydes masqués (DMF- DMA ,DMA-DMA) selon deux méthodes : sous chauffage classique et en absence de solvant sous irradiations par micro-ondes.

Le troisième chapitre est consacré à la mise au point, via les énamino-pyrazoles issues du DHA, d'une voie d'accès à une nouvelle série de composés tricycliques associant les noyaux pyrrolidine, pyrazole et la 2- pyrone, susceptibles de présenter une activité pharmacologique potentielle.

Les tests antimicrobiens réalisés sur l'ensemble des produits issus de ce travail feront l'objet du quatrième chapitre.

Nous terminerons enfin par une conclusion sur le travail effectué au cours de ce mémoire.

## Références bibliographiques

- [1]- X. Fernandez, S. Kerverdo, E. Dunach, L. Lizzani-Cuvelier, *Actualité Chimique* 4, 4, **2002**.
- [2]- a) S. Kummar, R. Kinders, L. Rubinstein, R. E. Parchment, A. J. Murgo, J. Collins, O Pickeral, J. Low, S. M. Steinberg, M. Gutierrez, S. Yang, L. Helman, R. Wiltout, J. E Tomaszewski, J. H Doroshow, *Nature*, 7, 131, **2007**. (b) C. A. McDevitt, R. Callaghan, *Pharm. Thera.*, 113, 429, **2007**. (c) P. Raboisson, R. L. DesJarlais, R. Reed, J. Lattanze, M. Chaikin, C. L. Manthey, B. E. Tomczuk, J. Marugan, *Med. Chem*, 42, 334. **2007**.
- [3]- P. Kraft, J. A. Bajgrowicz, C. Denis, G. Frater, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39, 2980. **2000**.
- [4]- H. Cao, V. Chang, R. Hernandez, M. D. Heagy, *Org. Chem.*, 70, 4929, **2005**.
- [5] - N. Bennamane, R. Kaoua, L. Hammal, B. Nedjar-Kolli, *Org. Commun.* 1, 62, **2008**.
- [6] - L. Hammal, S. Bouzroua, B. Nedjar-Kolli, C. André and P. Hoffman, *heterocyclic Communications*, 3, 15, **2009**.
- [7] - N. Bennamane, B. Nedjar-Kolli, A. A. Geronikaki, P. Th. Eleftheriou, R. Kaoua, K. Boubekour, P. Hoffman, S. S. Chaudhary, A. K. Saxenaf, *Arkivoc* , 2, 69, **2011**.

# **Chapitre I**

## **Etude bibliographique**

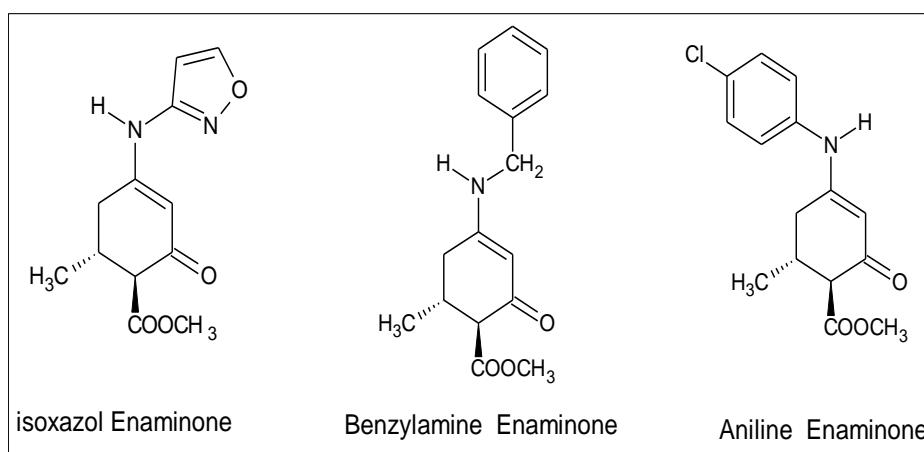
## I.1- Introduction

Afin de prendre en considération le contexte dans lequel ce travail a été réalisé, nous présenterons dans cette étude bibliographique les systèmes  $\beta$ -énaminones précurseurs de base dans la conception des structures visées. Nous décrirons ensuite les propriétés biologiques et les différentes voies de synthèse des noyaux benzimidazole, 2-pyrone, pyrazole et pyrrolidine incorporant les structures ciblées. Enfin, nous effectuerons un bref rappel des *notions* liées à l'activité antimicrobienne.

## I.2- Rappels bibliographiques sur les systèmes $\beta$ -énaminones et les hétérocycles ciblés.

### I.2.1- Les $\beta$ -énaminones

Les  $\beta$ -énaminones sont aujourd'hui reconnues comme synthons importants en synthèse organique et ont montré des activités biologiques multiples reliées à la présence de leur groupement fonctionnel, les plus importantes étant l'activité anti-convulsivante et antiépileptique [1] (schéma I.1). Certaines énamines ont révélé une activité antivirale (anti-HIV) [2], antitumorale [3] et antimicrobienne [4]. La synthèse de ces structures a donc suscité une grande attention et de nombreuses méthodes ont été mises au point.



**Schéma I.1** : Agents antiépileptiques cités en littérature [1]

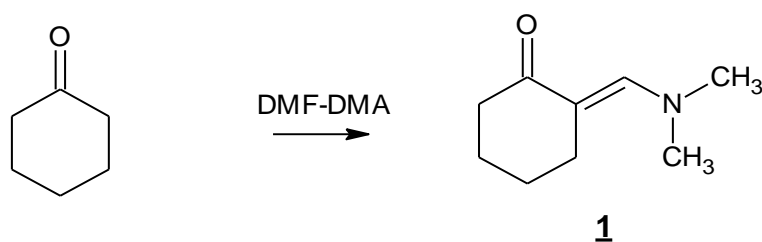
### 1.2.1.1-Méthodes de synthèses des énaminones

Les potentialités synthétiques des énaminones ont été fortement exploitées ces dernières décennies et plusieurs revues y sont consacrées. En effet ce sont des synthons hautement réactifs impliqués dans l'élaboration de molécules hétérocycliques fonctionnalisées présentant des activités pharmacologiques variées [5-8].

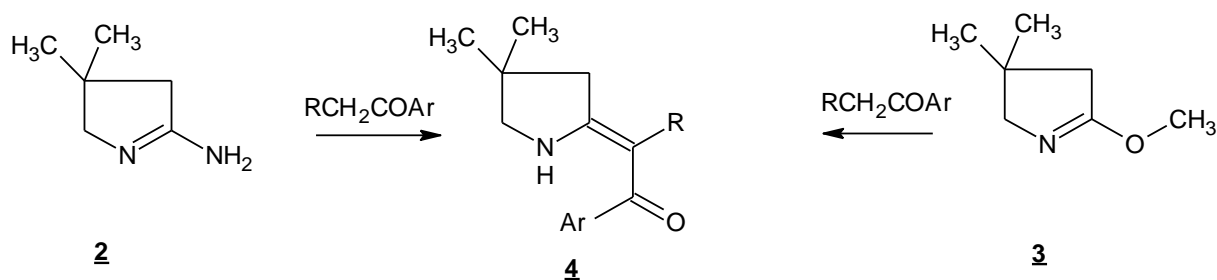
La méthode de synthèse la plus simple et la plus utilisée pour former une énaminone consiste à condenser des amines sur les composés 1,3- dicarboxylés dans diverses conditions expérimentales [9,10]. Parmi les nombreuses voies d'accès aux  $\beta$ - énaminones rapportées dans la littérature, quelques-unes ont retenu notre attention.

#### 1.2.1.1.1- Synthèse par chauffage classique

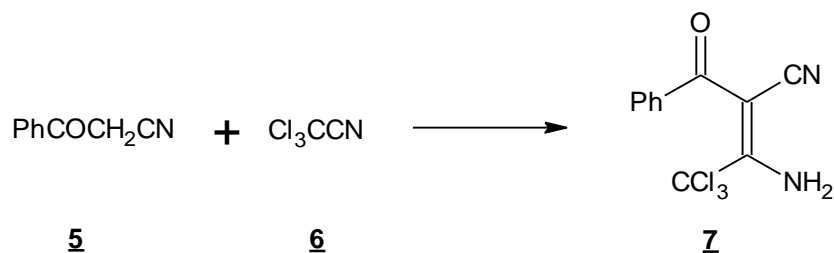
La réaction de la cyclohexanone avec le N,N-diméthylformamide diméthyl acétal (DMF-DMA) dans différentes conditions opératoires, (au reflux de l'éthanol [11], de l'éther diéthylique [12], sous azote [13], dans le toluène [14], dans le DMF [15] ou sans solvant [16]), conduit dans chaque cas à la formation de l'énaminone **1** avec des rendements allant de 60% à 90%.



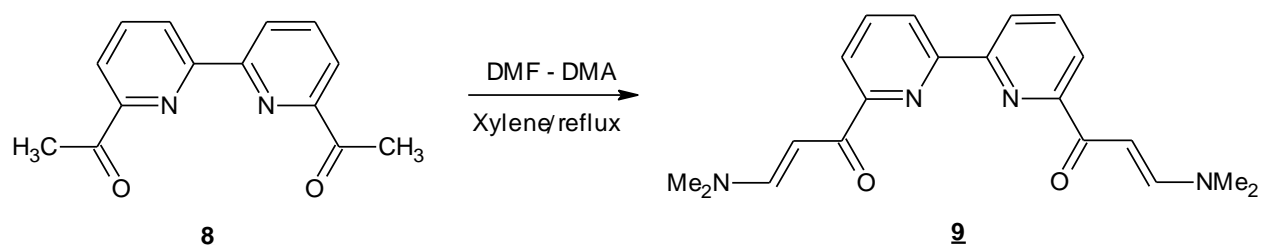
Les énaminones **4** ont été obtenues par la condensation de l'aminopyrrole **2** ou le méthoxypyrrrole **3** avec les  $\alpha$ -methylènecétones aromatiques [17,18].



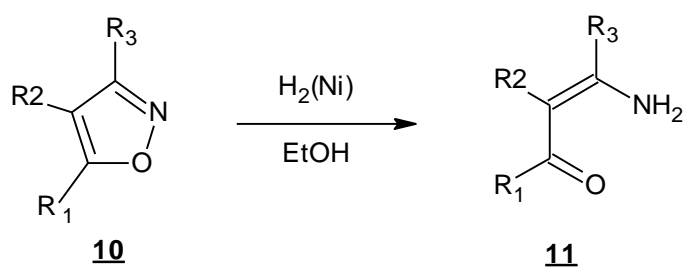
La réaction du benzoylacétonitrile **5** avec le trichloroacétonitrile **6** en présence d'une base, permet l'accès à l'énaminone **7** avec un rendement relativement faible (38%) [19].



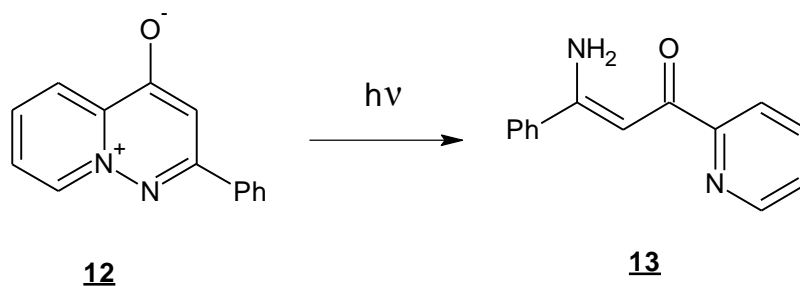
Le 6,6'-diacetyl-2,2'-bipyridine **8** mis en réaction en présence du diméthylformamide diméthylacétal au reflux du xylène sous azote, fournit la bis-énaminone **9** [20].



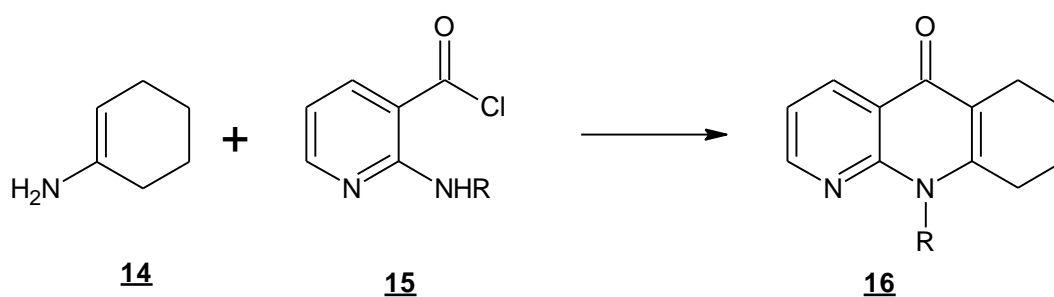
La réduction dans l'éthanol de l'isoxazole **10** sous hydrogène avec une quantité catalytique de nickel induit l'ouverture de ce cycle, donnant l'énaminone trisubstituée **11** avec d'excellents rendements [21].



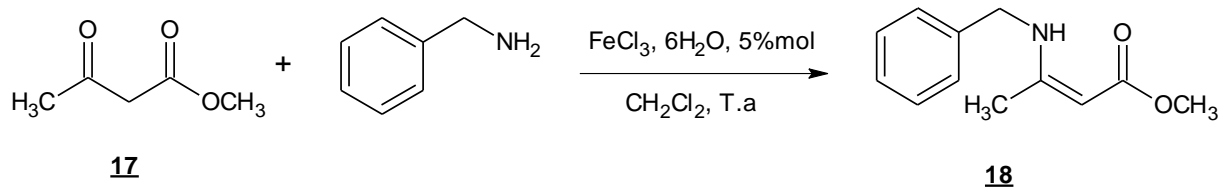
Batori et coll. [22] ont synthétisé l'énaminopyridine **13** par irradiation du pyridopyridazin-9-ium-4-olate **12**.



Par ailleurs Friary et coll. [23] ont réalisé l'acylation de la cyclohexénamine **14** par le chlorure d'acide **15** pour obtenir l'énaminone cyclique **16**.



L'énaminone **18** a été préparée avec un rendement de 92% à température ambiante, en condensant la benzylamine avec l'acétoacétate de méthyle **17** dans le dichlorométhane en présence de 5% molaire de catalyseur  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et de sulfate de sodium comme desséchant [24].



### 1.2.1.1.2- Synthèse sous micro-ondes

#### Généralités

Contrairement au chauffage classique qui présente l'inconvénient d'être lent et de n'atteindre que progressivement l'ensemble des produits à chauffer, l'irradiation des milieux réactionnels par les micro-ondes offre des avantages certains en synthèse organique, elle est simple à mettre en œuvre, rapide, sélective et efficace.

La littérature montre que pas moins de 2000 articles ont été publiés concernant la synthèse organique assistée par micro-ondes depuis les premières synthèses organiques réalisées dans un four domestique en 1986 par Gedye et Giguere [25,26].

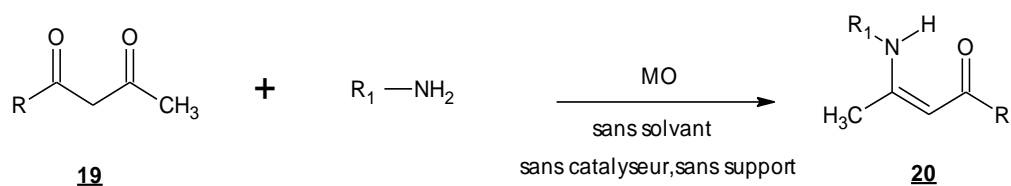
Le domaine d'applications s'est élargi jusqu'à s'étendre à la chimie hétérocyclique, la chimie organométallique, et la chimie combinatoire [27].

À présent, de nombreux groupes de recherche utilisent les micro-ondes pour optimiser rapidement des réactions chimiques difficiles ou impossibles à réaliser par d'autres méthodes et définir de nouvelles réactivités. Un nombre important de revues décrivent ces méthodes, et toutes s'accordent sur les bénéfices apportés par l'irradiation aux micro-ondes [28] :

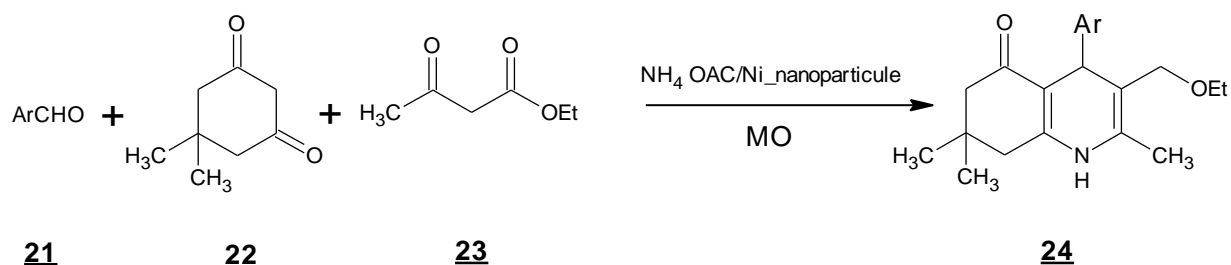
- Gain de temps considérable: temps d'irradiation de quelques minutes.
- propreté des réactions : produits isolés de plus haute pureté.
- rendements généralement augmentés.
- chauffage volumétrique des molécules polaires (chauffage au cœur de la matière).

Dans l'ensemble des méthodes utilisées pour accéder aux structures énaminones sous irradiation micro-ondes on peut distinguer :

La synthèse de l'énaminone *N*-substituée **20**, est réalisée sous irradiations aux micro-ondes par addition d'amines primaires sur la 1,3-dicéto **19** en absence de solvant et de catalyseur [29].



Shingare et coll. [30] ont développé une méthode de synthèse permettant l'accès aux hydroquinolines **24** incorporant le motif énamine. Elle consiste en une réaction multicomposants à partir de quatre produits de départ l'aldéhyde **21**, la dimédone **22**, l'acétoacétate d'éthyle **23** et l'acétate d'ammonium sous chauffage par micro-ondes à sec en utilisant les Ni- Nanoparticules comme catalyseur.



### I.2.2- Réactivité des énamines

Les énamines constituent une catégorie de produits stables, leur potentiel tient dans la réactivité exceptionnelle de leurs groupes fonctionnels. Elles comportent un système conjugué offrant à ces dernières une grande polyvalence synthétique. A ce titre elles possèdent cinq sites (a, b, c, d, e) rendant leur chimie particulièrement riche et d'une portée considérable. La conséquence directe de ces propriétés est la possibilité pour les énamines de réagir avec des électrophiles et des nucléophiles (schéma I.2).

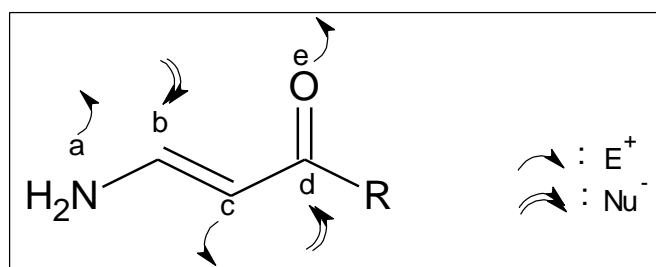
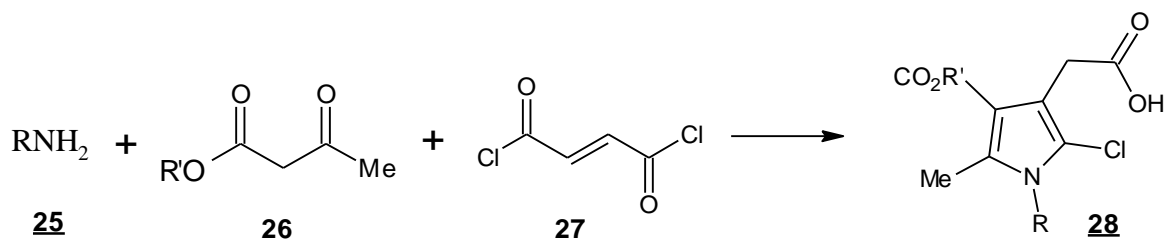


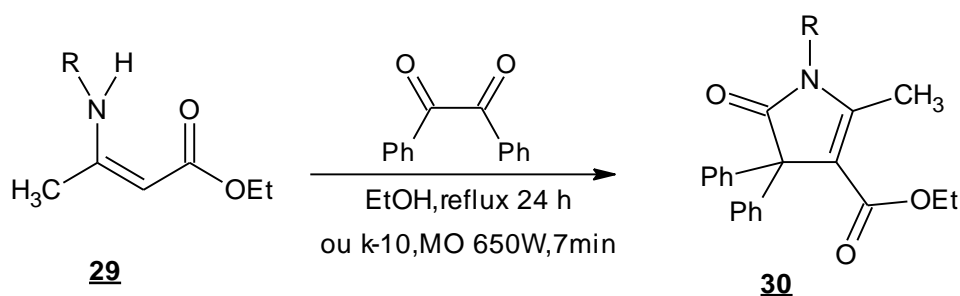
Schéma I.2 : Les différents types de réactivité des énamines

### 1.2.2.1- Comportement nucléophile

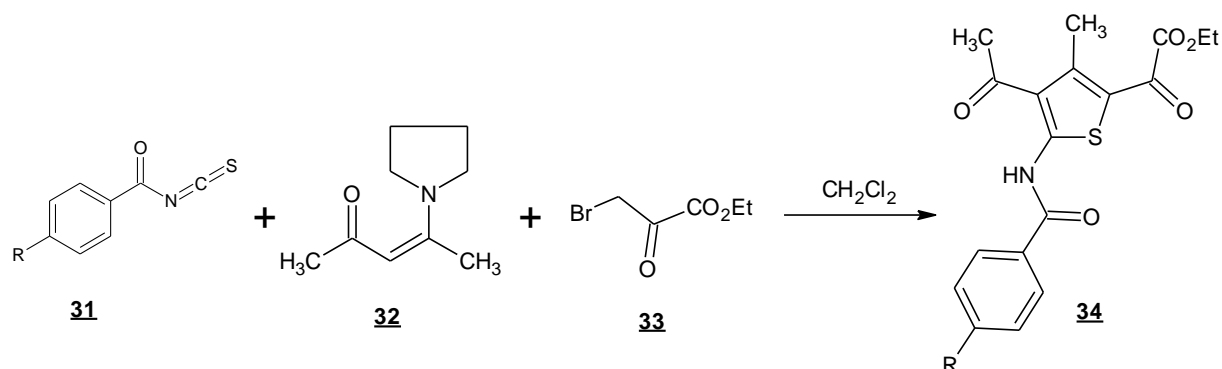
L'accès aux dérivés pyrroles **28** [31] s'effectue via une cyclisation intramoléculaire, en faisant réagir à température ambiante en absence de solvant les amines primaires **25**, l'alkyl acétoacetate **26** et le chlorure de fumaryle **27**.



Braibante et coll. [32] ont publié une voie d'accès aux structures pyrrolinones **30** par réaction des énamines **29** avec le benzil en opérant dans différentes conditions (l'éthanol à reflux ou sous irradiations par micro-ondes en présence d'un support solide la montmorillonite K-10).



L'action du benzoyl isothiocyanate **31** sur l'énamine **32** dans des conditions douces en présence de bromopyruvate d'éthyle **33** donne le 2-(4-acetyl-5-benzoylamino-3-méthyl-2-théinyl)-2-oxoacétate d'éthyl **34** [33].

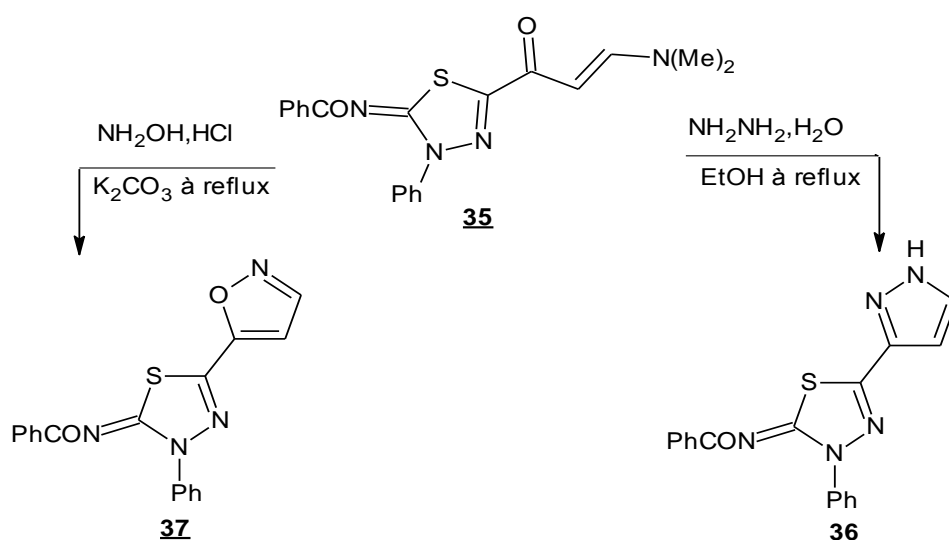


### I.2.2.2- Comportement électrophile

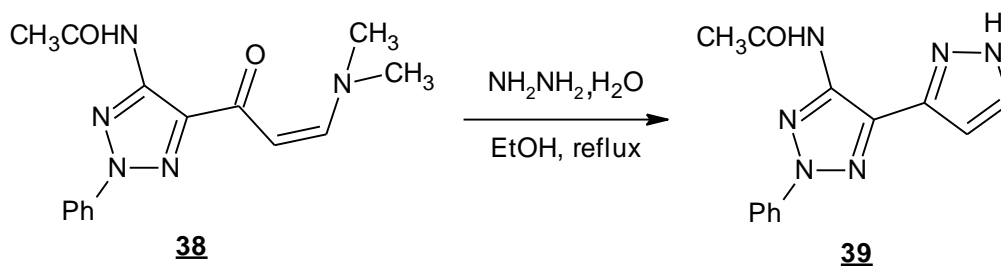
Les réactifs binucléophiles réagissent, dans des conditions bien déterminées sur les sites électrophiles des énamines, engendrant ainsi divers composés hétérocycliques.

Nous donnerons à titre d'exemple les réactions suivantes :

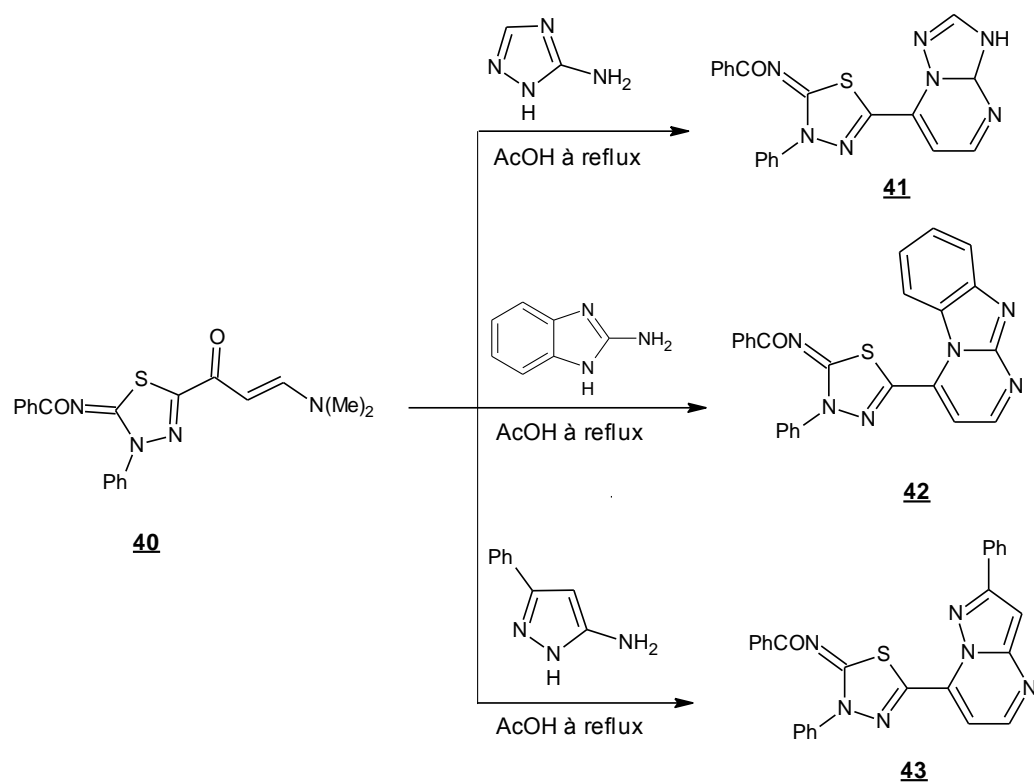
L'action de l'hydrazine hydrate ( $\text{NH}_2\text{NH}_2, \text{H}_2\text{O}$ ) et du chlorure d'hydroxylamine ( $\text{NH}_2\text{OH}, \text{HCl}$ ) sur l'énaminone **35** a permis la formation respectivement des structures thiadiazolopyrazole **36** et thiadiazoloisoxazole **37** [34].



L'action de l'hydrazine hydrate sur l'énaminone **38** dans l'éthanol à reflux [35], a permis d'isoler le dérivé pyrazolotriazole substitué **39**.



Plusieurs réactions ont été réalisées sur l'énaminone **40** en la soumettant à des amino-hétérocycles azotés, permettant l'accès aux polyhétérocycles fonctionnalisés **41**, **42** et **43** [34].



### I.3. Intérêt biologique et synthèse des hétérocycles constituant les structures ciblées

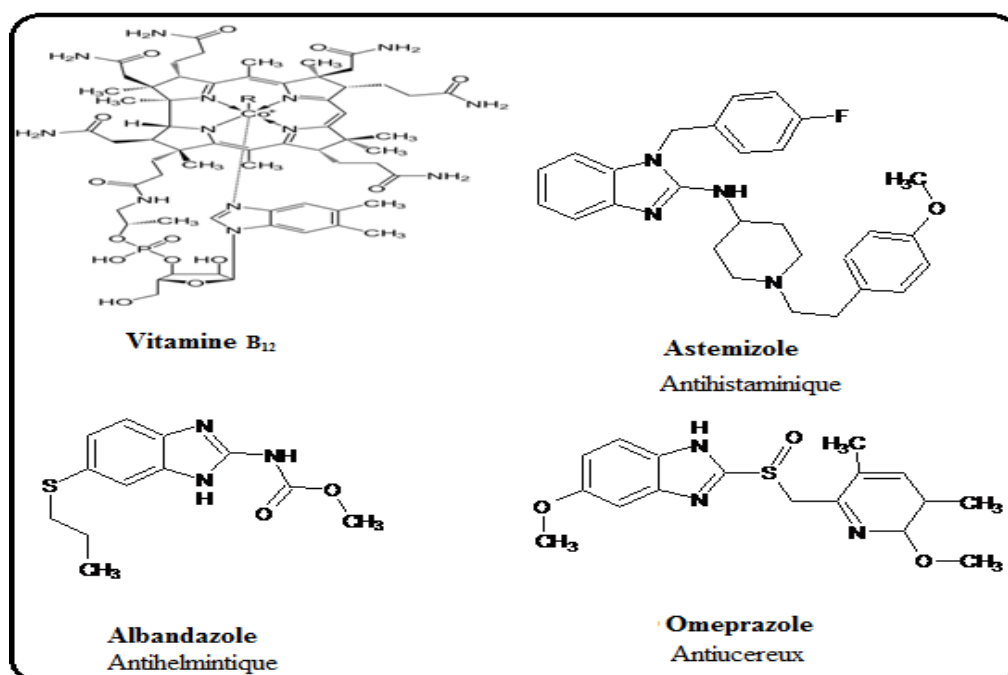
Les hétérocycles sont des composés cycliques dans lesquels un ou plusieurs atomes de carbone formant le cycle sont remplacés par un hétéroatome, les plus communs sont l'azote, l'oxygène et le soufre. Ils présentent un intérêt considérable en raison de leurs nombreuses propriétés qui leur ouvrent des applications dans plusieurs domaines. En effet, les benzimidazoles, les pyrazoles, les 2-pyrones, et les pyrrolidines, noyaux ciblés dans ce travail, sont des hétérocycles qui ont montré diverses activités pharmacologiques. Nous développerons dans ce qui suit quelques méthodes de synthèse et l'intérêt biologique de ces hétérocycles.

### ***1.3.1- Les Benzimidazoles***

#### ***1.3.1.1- Intérêt biologique***

Le motif benzimidazolique le plus important dans la nature est le N-ribosyl-riméthylbenzimidazole, qui constitue un ligand pour le cobalt dans la vitamine B12 essentielle au fonctionnement normal du système nerveux et à la formation du sang [36].

Il se distingue également par son haut potentiel en chimie médicinale, en effet il est présent dans plusieurs médicaments synthétiques ayant des propriétés variées [37] (Schéma I.3).



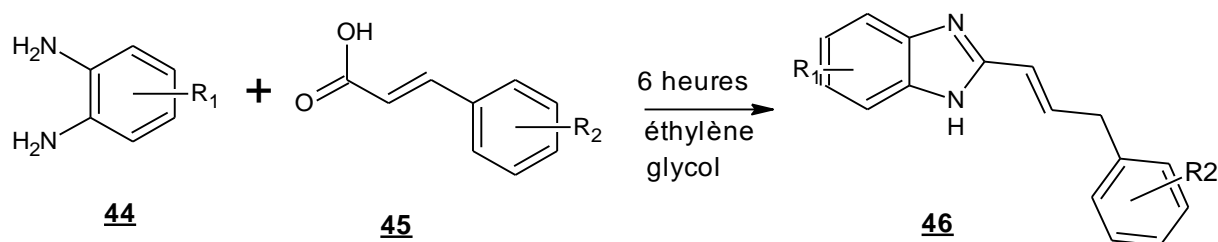
**Schéma I.3-** Les benzimidazoles en chimie médicinale

Ces composés sont connus aussi pour leurs propriétés antipsychotiques, anti-HIV, inhibitrices de l'enzyme cyclooxygénase, antivirales, anticoagulantes, anticancéreuses et antimicrobiennes [38 - 44].

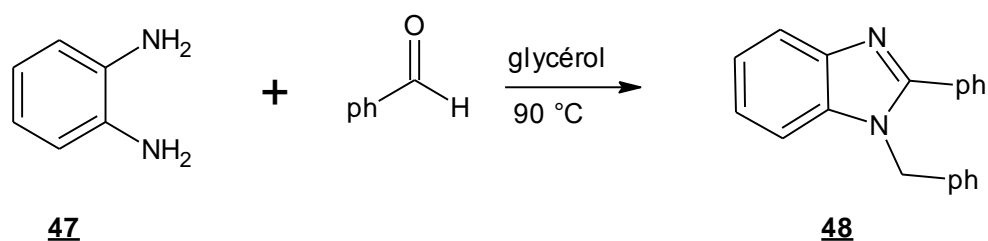
En tant que telles, ces structures ont fait l'objet de l'attention de nombreux groupes de recherche, qui ont travaillé à l'élaboration de nouvelles voies de synthèse pour accéder à des molécules plus actives et plus spécifiques.

### 1.3.1.2 - Synthèse des benzimidazoles

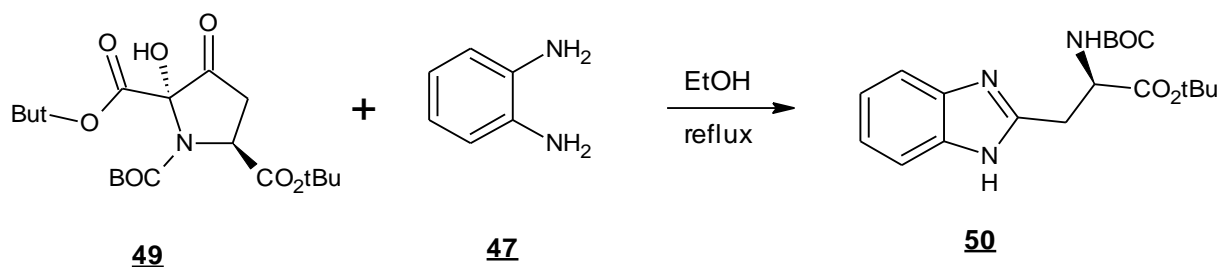
La synthèse des benzimidazoles **46** a été réalisée par condensation des o-phénylènediamines **44** avec l'acide cinnamique substitué **45** dans l'éthylène glycol pendant 6 heures à 200°C [44]. L'ensemble de ces dérivés a montré une activité anti-tuberculeuse, antifongique et antibactérienne.



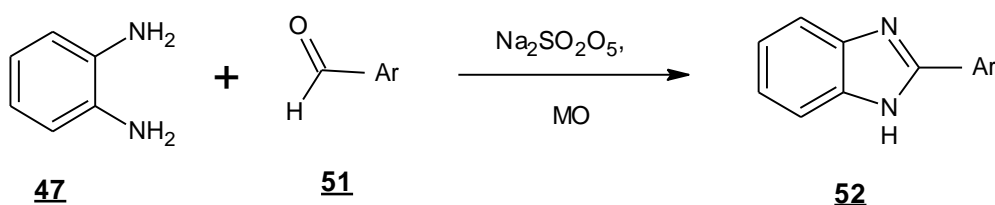
Radatz et coll. ont décrit la synthèse du benzimidazole **48** par addition de l'o-phénylènediamine **47** sur le benzaldéhyde à une température de 90°C et dans le glycérol comme solvant [45].



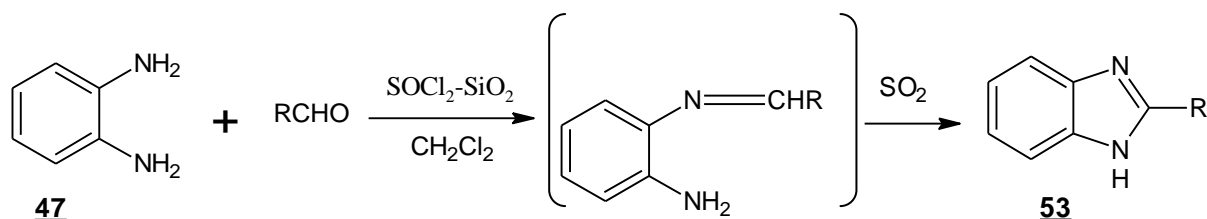
L'équipe de Pritchard a décrit l'obtention du benzimidazole C.substitué **50**. La réaction est effectuée en portant au reflux de l'éthanol l'o-phénylènediamine **47** et la pyrrolidinone convenablement substitué **49** [46].



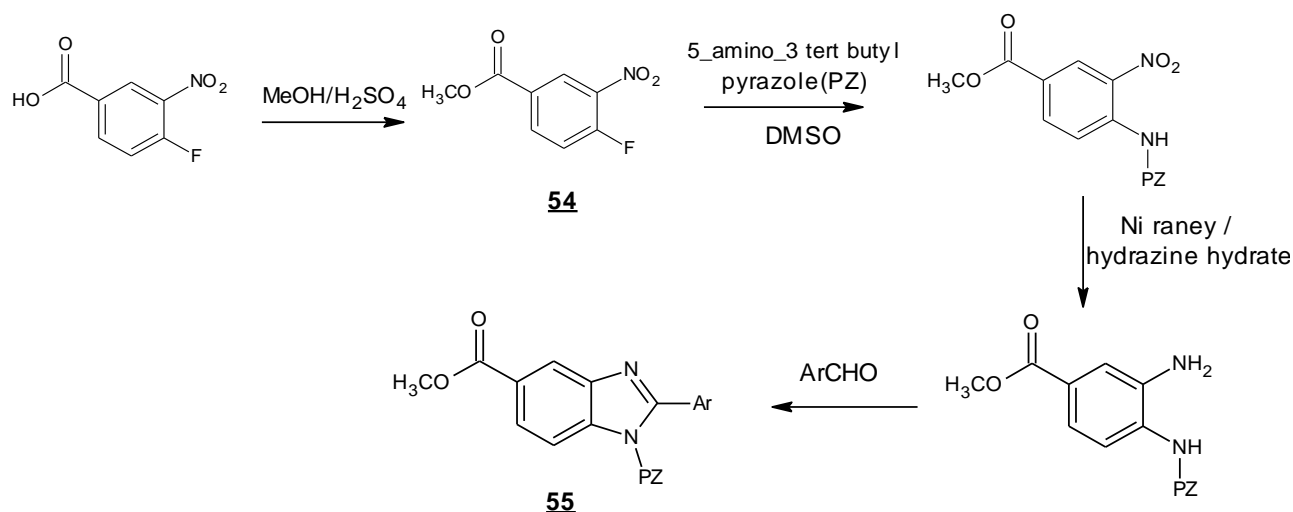
Navarrete-Vazquez et coll [47]. réalisent à partir de l'*o*-phénylènediamine **47**, d'aldéhydes aromatiques **51** et du metabisulfite de sodium, sous irradiations par micro-ondes en absence de solvant, la synthèse avec de bons rendements des 2-(alkyloxyaryl)- benzimidazoles **52**. Ces derniers soumis à des tests biologiques ont montré une activité antispasmodique intéressante.



Le système benzimidazolique est obtenu avec de bons rendements en soumettant les aldéhydes **53** à l'action de l'*o*-phénylènediamine **47**. Cette réaction est réalisée dans le dichlorométhane à température ambiante en présence de  $\text{SO}_2$  et du système  $\text{SOCl}_2\text{-SiO}_2$  comme support minéral [48].



Une équipe [49] a développé en quatre étapes, au départ de l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque **54** la synthèse des benzimidazoles N-pyrazolés **55**.



## I.3.2- Les Pyrazoles

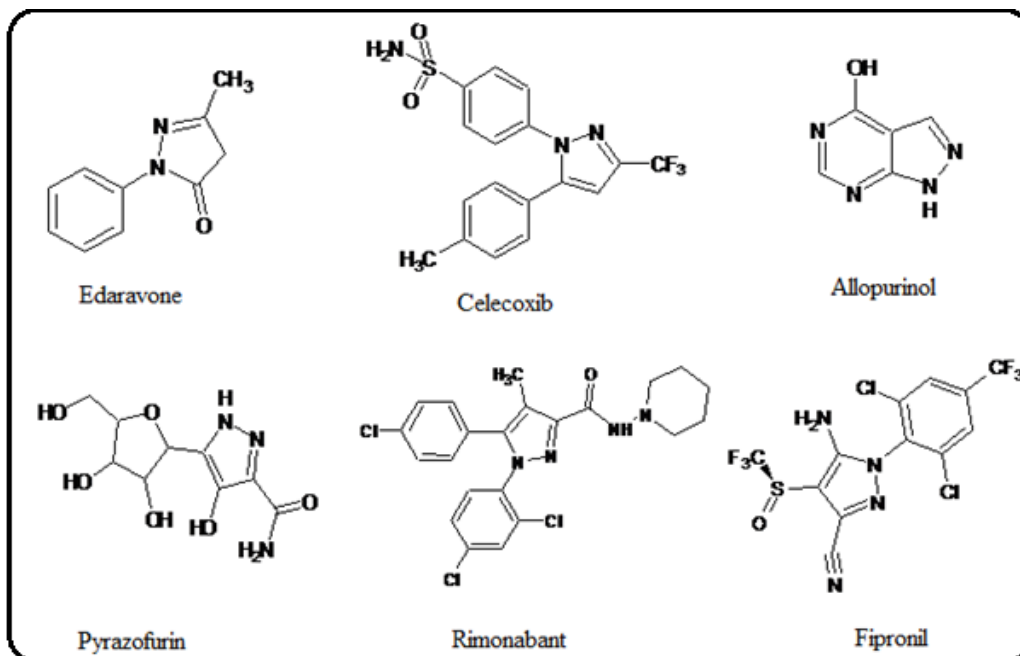
### I.3.2.1- Intérêt biologique

Durant ces dernières années, la littérature a rapporté un grand nombre de travaux faisant état de l'activité biologique de composés présentant dans leur squelette de base un noyau pyrazole [51]. Parmi ces composés, nombreux sont ceux qui ont révélé des propriétés antimicrobiennes, antivirales anticancéreuses et antiinflammatoires [51-55].

A ce jour plusieurs composés d'intérêt thérapeutique ou agrochimique sont constitués d'hétérocycles pyrazolés. Quelques exemples de dérivés pyrazoles utilisés cliniquement sont présentés sur le schéma I.4.

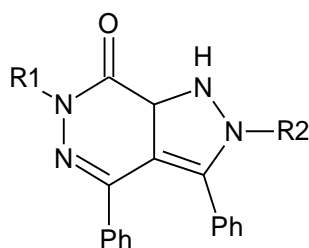
L'edaravone est un exemple d'agent neuroprotecteur. Le celecoxib est un médicament anti-inflammatoire, inhibiteur sélectif de la COX2 [55]. Ce pharmacophore incorpore une variété de médicaments comme l'Allopurinol qui est un inhibiteur de l'enzyme xanthine oxydase utilisé dans le traitement de l'arthrite goutteuse [56]. Le Pyrazofurin est un exemple de composé antibiotique [57], alors que le Rimonabant est agent anorexigène employé dans les cas d'obésité [58].

Plus d'être impliqués dans des molécules démontrant des propriétés biologiques pour la santé humaine, on retrouve également des dérivés aminopyrazoles dans le domaine de l'agriculture. Par exemple, le Fipronil, s'est avéré être un pesticide et un antiparasitaire très actif [59].



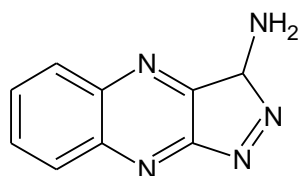
**Schéma I.4 :** Exemples de dérivés pyrazoles possédant diverses bio-activités.

Des chercheurs [52] ont mis au point une méthode de préparation de nouveaux dérivés 3,4-diphenyl-1,2,4,7-tetrahydro-7*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyridazin-7-one. Parmi les molécules obtenues, certaines possèdent une activité inhibitrice intéressante contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif.



3, 4-diphenyl-1,2,4,7 -tetrahydro-7*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyridazin-7-one

Une étude préliminaire de relation structure-activité a montré une activité antiproliférative pour le composé 3-amino-pyrazoloquinoxaline ci- dessous [60,61].



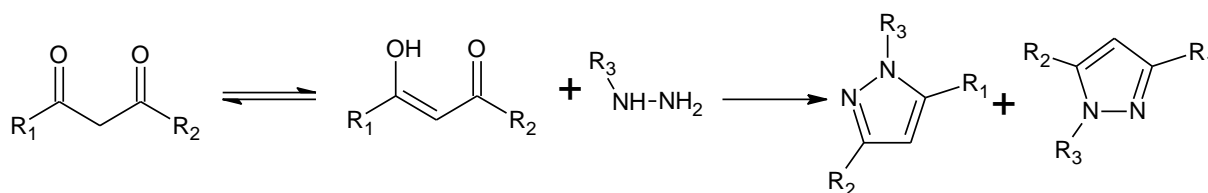
3 Amino-pyrazolo [3, 4-b] quinoxaline

D'autres propriétés associées aux pyrazoles ont également été relevées dans la littérature parmi elles on peut citer les activités antihyperglycémique, analgésique, antipyrétique [62,63].

De nombreuses méthodes de synthèse de composés pyrazoliques ont été rapportées dans la littérature. Dans ce qui suit, nous allons présenter quelques-unes parmi les plus significatives.

### 1.3.2.2- Synthèse des pyrazoles

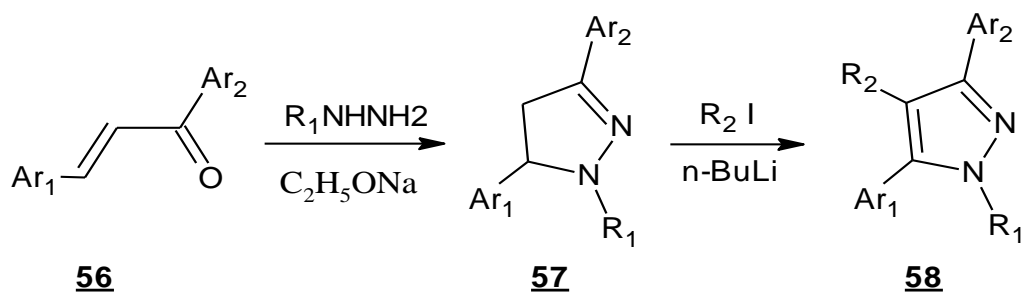
Depuis la découverte du premier pyrazole et de ses dérivés par Knorr en 1883 [64], de nombreux pyrazoles diversement substitués ont été synthétisés (Schéma I.5.).



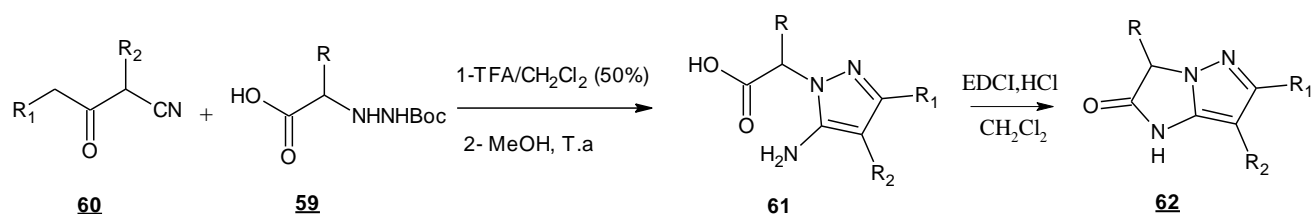
**Schéma 1.5 :** Dérivés pyrazole de Knorr

La méthode la plus employée pour synthétiser le motif pyrazole est la condensation de dérivés de l'hydrazine avec des composés β-dicarbonylés [65].

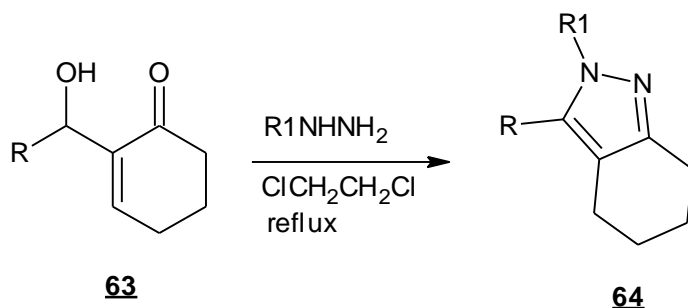
Katritzky et coll. [66] ont mis au point une méthode de synthèse permettant d'obtenir les pyrazolines **57**, en faisant réagir les dérivés de l'hydrazine avec la 1, 3- diarylénone **56** en présence d'éthylate de sodium comme base. La C-alkylation en position 4 de la pyrazoline suivie d'une déshydrogénation donne accès aux pyrazoles tétrasubstitués **58**.



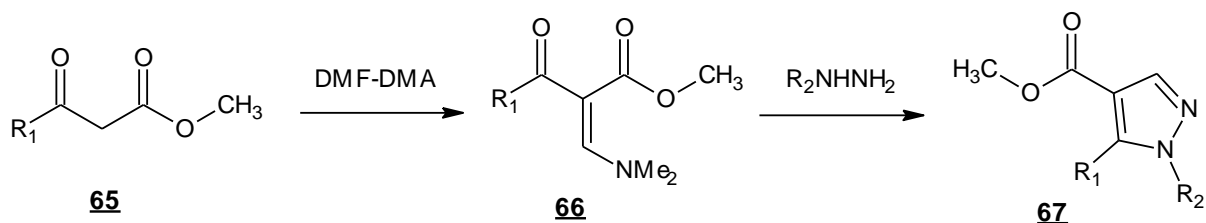
La condensation des  $\alpha$ -hydrazino acides **59**, préalablement déprotégés en milieu acide trifluoroacétique (TFA), avec les  $\beta$ -cétonitriles **60** dans le méthanol à température ambiante conduit aux 5-Aminopyrazoles **61**. Ces derniers traités dans le dichlorométhane par le 1-éthyl-3-[3-(diméthylamino) propyl] carbodiimide hydrochloride (EDCI,HCl) cyclisent par déshydratation en imidazopyrazol-2-ones **62** [67].



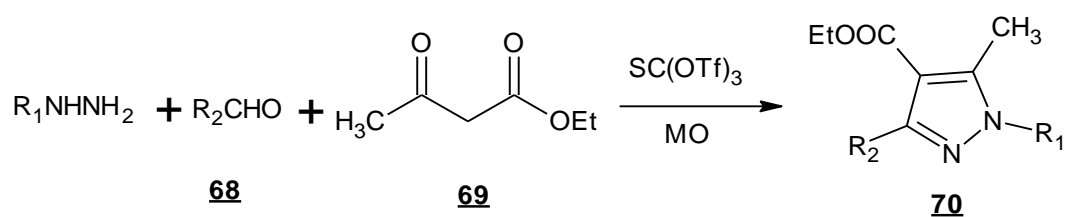
Une équipe [68, 69] a obtenu une série de pyrazoles **64** différemment substitués en position 1, en condensant des hydrazines avec les hydroxycyclohexén-2-ones **63** dans le 1,2-dichloroéthane à reflux.



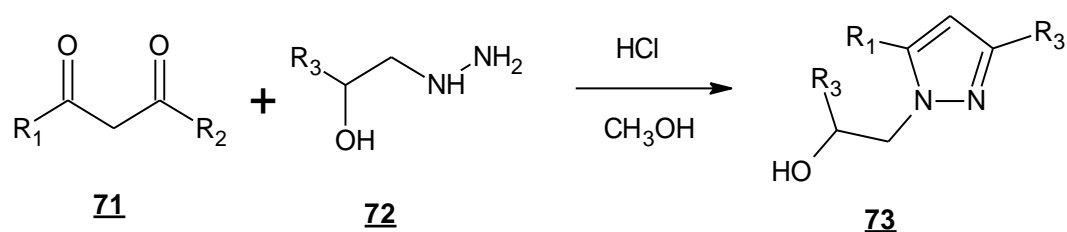
Dans un autre travail, Zhai et coll. [70] ont également préparé des motifs pyrazoliques fonctionnalisés **67**, d'abord en condensant le DMF-DMA avec les  $\beta$ -cétoesters **65** suivi d'une cyclocondensation des dérivés hydrazines sur l'énaminone **66** obtenue.



Très récemment [71], une réaction à trois composants impliquant les hydrazines, les aldéhydes **68** et les  $\beta$ -cétocesters **69** via une catalyse au  $\text{Sc}(\text{OTf})_3$  et sous irradiations par micro-ondes a conduit de façon efficace aux pyrazoles **70** ciblés.



La condensation d'alkylhydrazinoalcools **72** sur des  $\beta$ -dicétones **71** a lieu au reflux du méthanol en présence de  $\text{HCl}$  concentré pendant 24 h [72] permettant l'accès aux dérivés pyrazoles **73**.



### I.3.3- Les 2- Pyranones

#### I.3.3.1- Intérêt biologique

La chimie des lactones a connu ces dernières années, une attention particulière, inhérente à la mise en évidence des différentes applications de ce noyau dans divers domaines [73]. Le motif  $\delta$ - lactone (2-pyranones), le plus fréquemment rencontré, est un hétérocycle oxygéné résultant de la cyclisation d'acides hydroxylés. Il est présent dans une multitude de produits naturels bioactifs sous leurs formes simples ou combinées [74, 75].

Les molécules d'origine naturelle représentées ci-dessous (Schéma I.6.) illustrent quelques exemples de structures contenant le motif 2-pyranone : la Kavaine (isolée de la plante *Piper methysticum*, présentant une activité anxiolytique et neuroprotectrice) [76], la Warfarine (une molécule utilisée pour ses propriétés anticoagulantes) [77], l'embelliférone, un dérivé de la coumarine, utilisé pour ses propriétés odoriférantes [78]. La Cryptofolione est un exemple d'agent antitumoral possédant le cycle  $\delta$ -lactone [79].

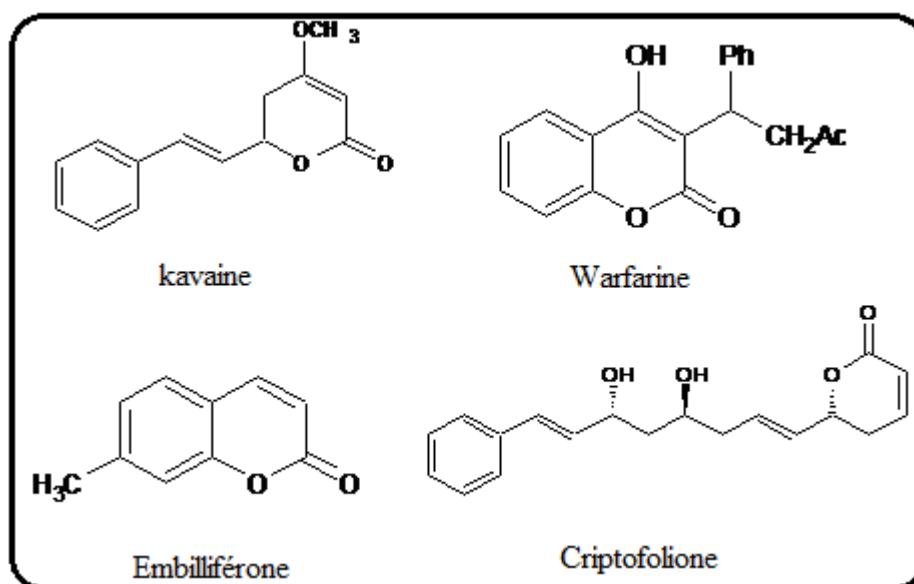
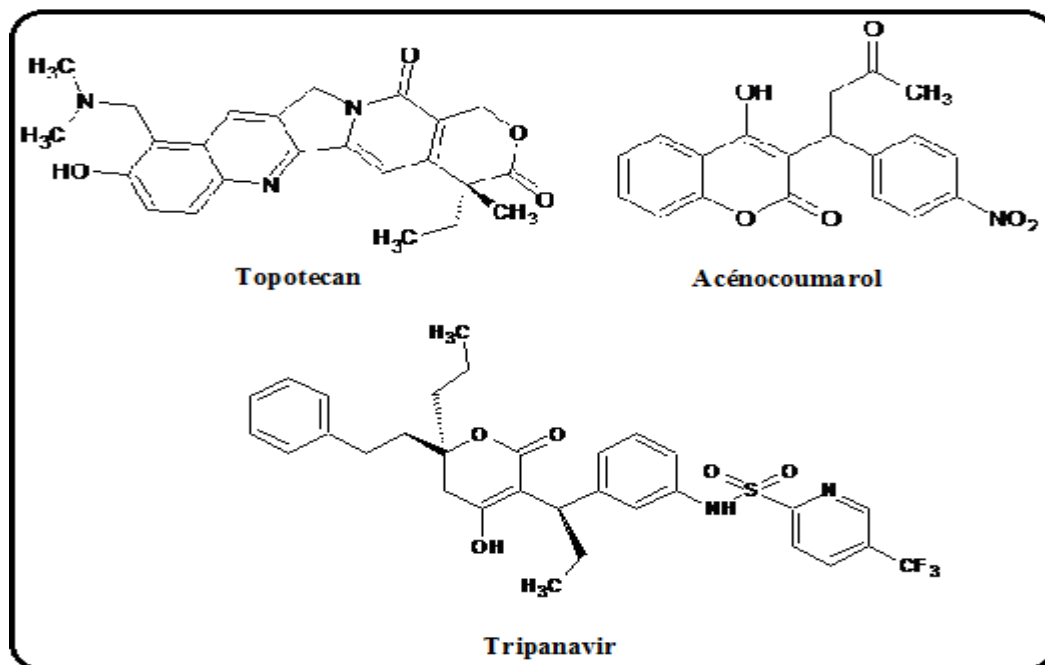


Schéma I.6 : Molécules lactoniques bioactives d'origine naturelle

Etant données les nombreuses occurrences du noyau 2-pyranone ( $\delta$ -lactone) dans les structures de composés naturels biologiquement actifs, le nombre de dérivés  $\delta$ -lactoniques ayant trouvé une application thérapeutique est très élevé. Parmi ceux-ci, on peut citer le Tripanavir un agent antiviral, l'Acénocoumarol (Sintrom) utilisé comme anticoagulant, et le Topotecan un agent actif contre certaines tumeurs (Schéma I.7).



**Schéma I.7 :** Exemples de dérivés  $\delta$ -lactone utilisés en thérapie

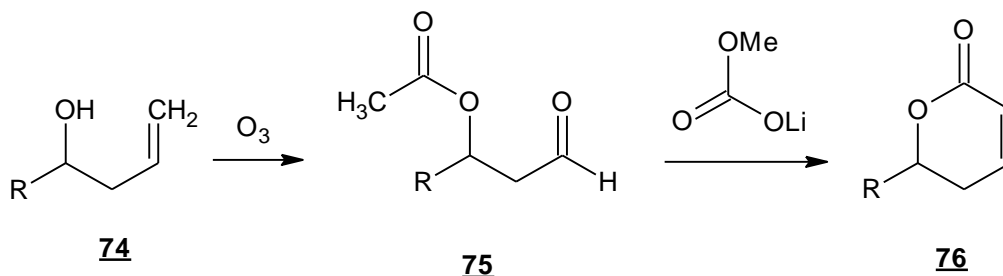
Les dérivés 2-pyranones possèdent toutefois de nombreuses autres vertus, puisque certains ont été décrits comme présentant un caractère antiprotozoaire[80] , antioxydant [81] , antibactérien[82] , et anti-inflammatoire [83].

A travers cette étude bibliographique, nous présenterons les différentes réactions les plus employées pour la construction du cycle 2-pyranone.

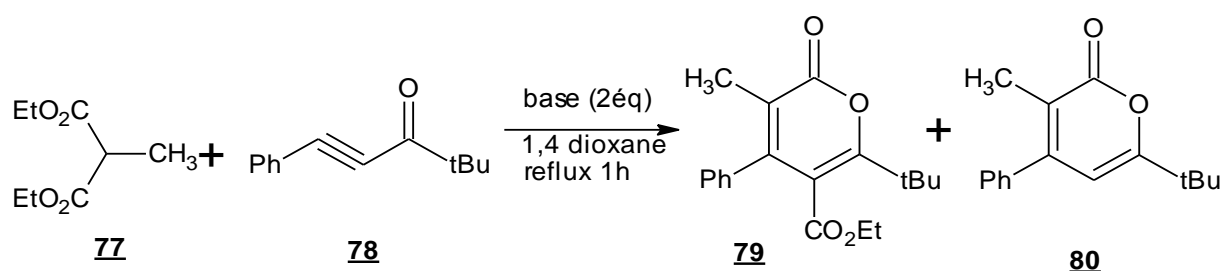
### I.3.3.2- Synthèse des 2- Pyranones

Le nombre croissant de travaux consacrés à l'obtention de nouveaux dérivés  $\delta$ -lactones s'explique par l'importance des activités biologiques associées à ces composés.

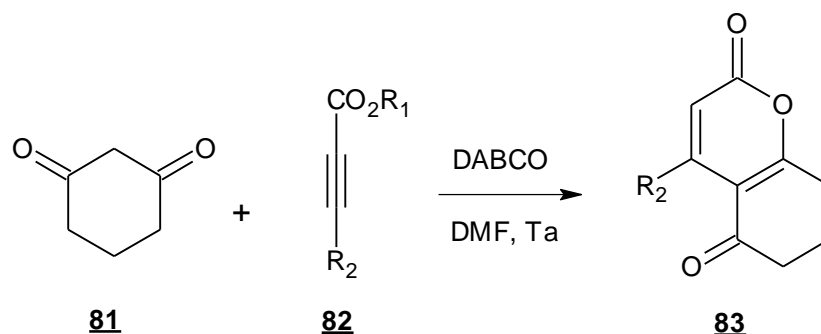
L'équipe de Keck [84], s'est intéressé à la préparation de lactones  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturées **76**. Ainsi les  $\beta$ -acétoxyaldéhyde **75**, obtenus par ozonolyse des alcools homoallyliques **74**, sont ensuite additionnés à l'énolate de lithium conduisant à la formation des lactones désirées.



L'action du diethyl methylmalonate **77** sur la tert-butyl 2- phenylethynyl cétone **78** au reflux du 1,4-dioxane en présence d'une base a permis d'isoler avec de bons rendements les 2- pyrones substitués **79** et **80** [85].



Cao et coll. [86] ont décrit la synthèse des 2- pyrones **83** par addition de la cyclohexane-1,3-dione **81** sur le dialkyl but-2-ynedioate **82** à température ambiante dans le diméthyle formamide en présence du DABCO comme catalyseur.



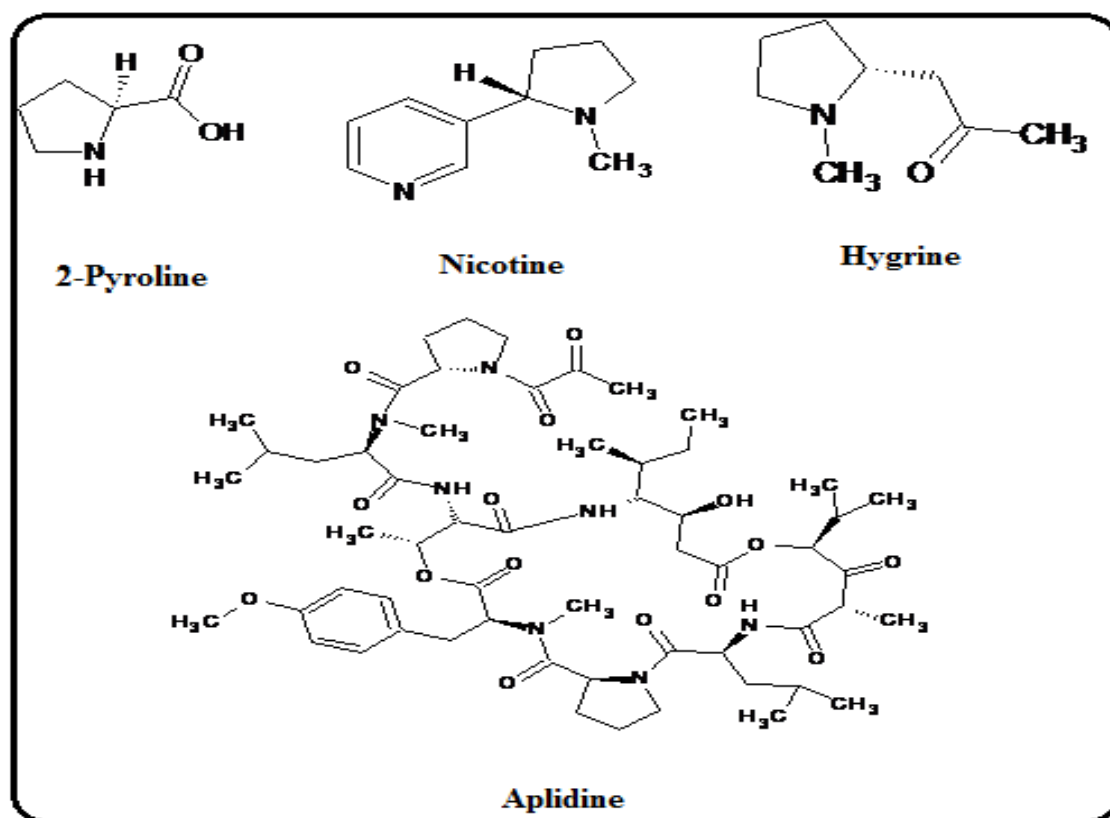
### ***1.3.4- Les Pyrrolidines***

#### ***1.3.4.1- Intérêt biologique et chimique***

Les pyrrolidines constituent une famille très importante d'hétérocycles azotés à cinq chaînons. En effet, certains de ces composés ont montré des activités bactéricides [87], antibiotiques [88], antalgiques et anticancéreuses [89].

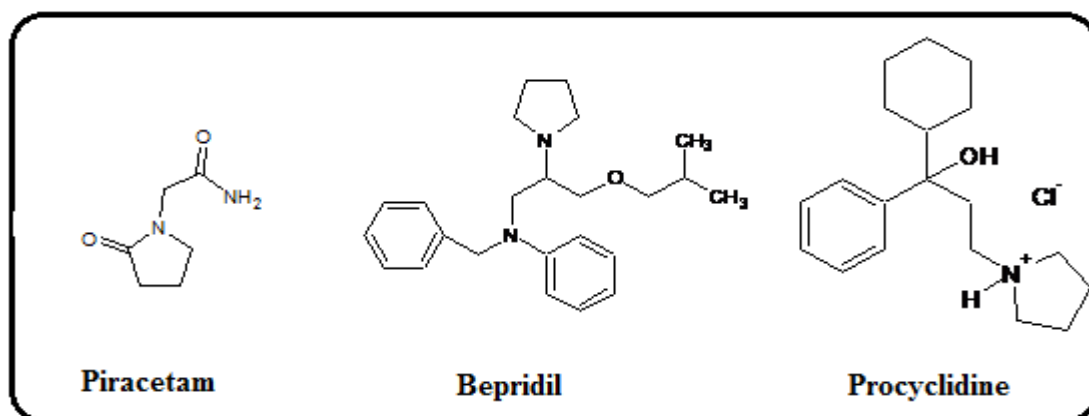
La pyrrolidine est présente naturellement dans les feuilles de tabac et de carotte et constitue le squelette de deux acides aminés naturels : la L-proline (acide aminé protéinogénique), l'hydroxyproline et L'aplidine (molécule antileucémique isolée d'un animal marin l'ascidie) Schéma I.8.

Le motif pyrrolidine est largement représenté parmi les alcaloïdes naturels qui jouent un rôle biologique fondamental. Par exemple la nicotine qui est un agoniste des récepteurs nicotiques, pourrait être utilisée comme un stimulant respiratoire. L'hygrine est quant à elle une molécule extraite des feuilles de coca à effet stimulant et permettant une meilleure oxygénation du sang (Schéma I.8).



**Schema I.8 :** Molécules naturelles contenant le cycle pyrrolidine.

De nombreuses molécules contenant le pharmacophore pyrrolidinique possèdent des applications thérapeutiques extrêmement diverses. Le Piracetam est un nootropique employé pour traiter la maladie d'*alzheimer*. Une autre molécule que nous avons choisi de mettre en lumière, le *Bépridil* une molécule au pouvoir *anti*-arythmique et *anti*-angineux, est utilisé en cardiologie. Pour finir, nous avons également fait figurer sur le schéma I.9, la Procyclidine, utilisée principalement pour le traitement des symptômes de la maladie de Parkinson.



**Schéma I.9.** : Exemples de médicaments à noyau pyrrolidinique.

En plus de constituer des cibles thérapeutiques de choix, les dérivés pyrrolidines sont des intermédiaires très versatiles en synthèse asymétrique, notamment pour la synthèse de composés biologiquement actifs [90, 91].

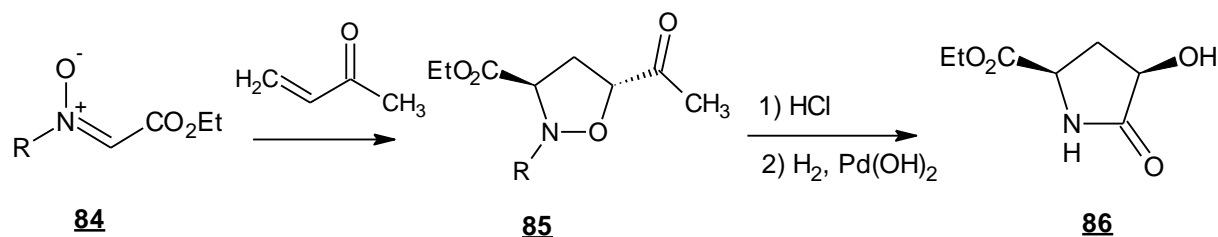
L'intérêt de ces composés en chimie médicinale a entraîné le développement de nombreuses préparations, nous allons détailler ici les méthodes les plus générales.

#### *1.3.4.2- Synthèse des Pyrrolidines*

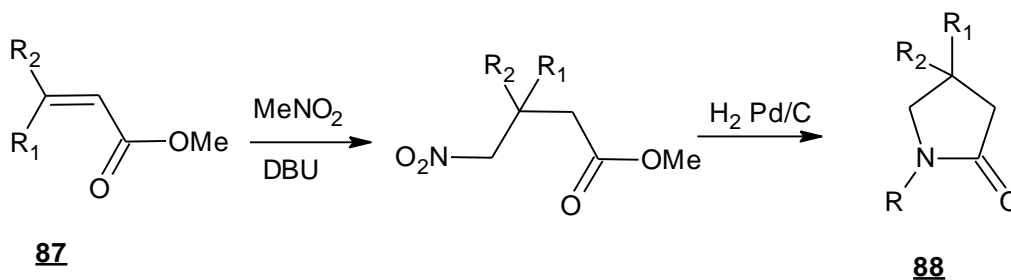
Il existe de nombreuses synthèses permettant d'accéder aux pyrrolidines dont nous citerons les plus connues :

Une méthodologie [92] s'appuyant sur une cycloaddition 1,3-dipolaire a été récemment décrite. Dans un premier temps, la cycloaddition du méthylacrylate avec la nitroène **84** donne accès aux structures isoxazolidines N-protégées **85**. Après une hydrolyse en milieu acide, ces

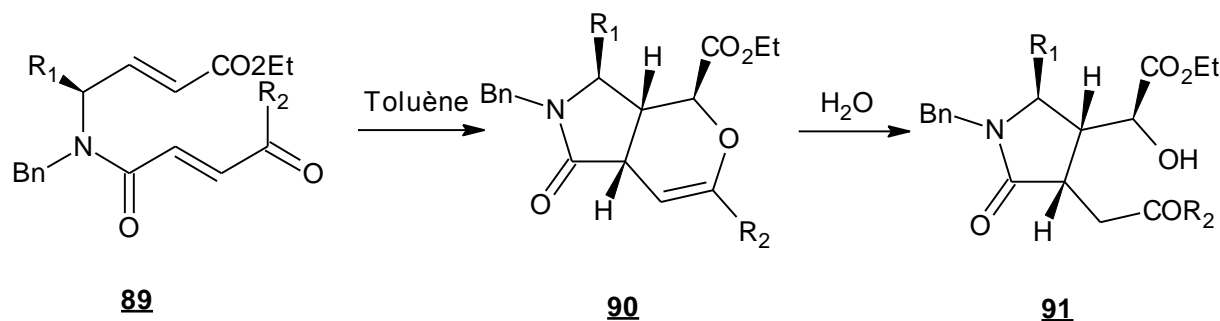
dernières sont clivées et réduites, pour conduire par recyclisation à la pyrrolidinone optiquement active **86**.



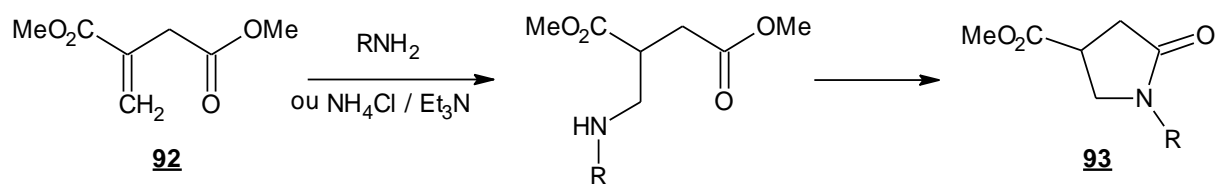
Un autre type de réaction utilise l'addition du nitrométhane sur l'ester  $\alpha,\beta$ -insaturé **87** dans l'acétonitrile en présence de DBU [93]. Après l'élimination de  $\text{HNO}_2$ , l'obtention de la pyrrolidinone **88** est finalisée par une séquence de réduction-lactamisation [94].



Une autre stratégie décrite par Murray implique une cyclisation intramoléculaire de type oxo-Diels-Alder des triènes **89** [95] conduisant à la pyrrolidinone bicyclique **90** qui est ensuite hydrolysé générant les pyrrolidinones hautement fonctionnalisées **91**.



L'addition d'amines sur le diméthyl 2-méthylidènebutanedioate **92** suivie d'une lactamisation [96] permet d'obtenir en grande quantité les pyrrolidinones  $\beta$ -substituées **93**.



## I.4- Rappels de quelques notions de microbiologie :

### I.4.1- Introduction

La dernière partie de ce manuscrit consiste en l'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique des produits synthétisés. Il nous a paru utile de définir quelques notions de microbiologie essentielles à la compréhension de ce travail.

Le terme micro-organisme a remplacé celui de microbe pour décrire des organismes de taille microscopique appartenant à des groupes divers : bactéries, champignons, protozoaires, ainsi que les virus caractérisés par une structure non cellulaire. Ils sont associés aux plantes ou aux animaux avec lesquels ils peuvent entretenir des relations de symbiose, ou de parasitisme. Dans ce travail, on s'intéresse en particulier aux bactéries et aux champignons [97].

### I.4.2- Description des bactéries

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Certaines bactéries exercent des actions bénéfiques (bactéries fertilisantes du sol,...) mais d'autres sont pathogènes et sont responsables de différentes infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme (infections nosocomiales, mycoses, infections bactériennes, ...). Elles causent aussi des contaminations alimentaires.

Les bactéries, sont des organismes vivants unicellulaires caractérisées par une absence de noyau (procaryotes) dont le génome est constitué d'ADN. L'étude microscopique a révélée l'existence [97] de plusieurs formes : sphériques (coques ou coccus), en bâtonnets (bacilles) ou spiralées, voire des formes plus complexes.

Un élément important de la bactérie est sa paroi cellulaire, c'est une structure vitale qui est le support de la rigidité, de la forme bactérienne et qui a un rôle de protection

Il existe deux grandes classes de bactéries : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. La différence réside essentiellement dans la structure de la paroi cellulaire. Les bactéries peuvent être différenciées avec la coloration de Gram (mis au point en 1884). Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et ainsi de pouvoir les classer.

### ***1.4.3- Bactéries Gram négatif et Gram positif***

#### ***1.4.3.1- Bactéries Gram négatif***

La paroi des bactéries Gram négatif a une structure qui comporte : la membrane externe, une couche de peptidoglycane, l'espace periplasmique et la membrane plasmique. Généralement, la paroi des bactéries Gram<sup>-</sup> a une épaisseur comprise entre 15 et 20 nm (Schéma I.10).

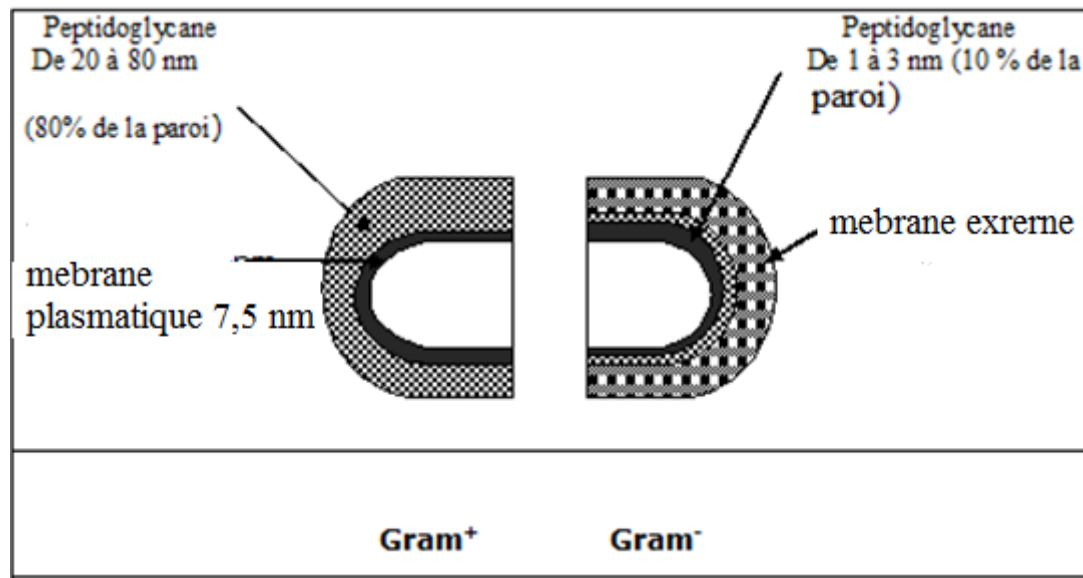
- Par opposition aux bactéries à Gram +, la membrane externe des bactéries à Gram- située à la surface de l'enveloppe, induit une résistance à plusieurs classes de molécules antibactériennes par imperméabilité. En effet, chez ces bactéries, la membrane externe est complexe et relativement étanche aux substances externes

#### ***1.4.3.2- Bactéries Gram positif***

La paroi des bactéries Gram<sup>+</sup> (épaisseur comprise entre 20 nm et 100 nm) a une structure s'organisant en trois couches : la couche de peptidoglycane composant la paroi cellulaire, l'espace periplasmique et la membrane plasmique.

- La couche de peptidoglycane des bactéries Gram positif est beaucoup plus épaisse que celle des bactéries Gram négatif. (Schéma I.10).

- Chez les bactéries à Gram positif, il n'existe pas de membrane externe, la paroi bactérienne est constituée exclusivement du peptidoglycane qui est relativement perméable à la plupart des antibiotiques.



**Schéma I.10.** Paroi bactérienne Gram+ et Gram-

#### ***1.4.4- Description des champignons***

Les champignons sont des organismes qui forment un groupe homogène constitué de champignons macroscopiques et de champignons microscopiques (mycètes) à savoir les levures et les moisissures qui peuvent être saprophytes ou parasites. D'une part ils sont bénéfiques, car utilisés dans la production bio-industrielle et d'autre part nuisibles à la santé [97]. Dans ce dernier cas, ils peuvent attaquer soit l'être humain par exemple alors de mycose, soit les plantes, causant ainsi des maladies cryptogamiques.

#### ***1.4.5- Les antimicrobiens***

##### ***1.4.5.1- Les antibiotiques***

A l'origine, le mot antibiotique désigne toute substance naturelle qui, même à très faibles concentrations, a une action d'inhibition ou de destruction spécifique contre les bactéries. Actuellement, cette définition s'est encore élargie pour devenir : toute substance naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui a le pouvoir d'inhiber ou de détruire des microorganismes. Les antibiotiques sont répartis en plusieurs familles parmi ces dernières on peut citer:

- Les pénicillines.
- Les céphalosporines.

- Les quinolones.
- Les sulfamides.
- Les tétracyclines.

Les substances antibiotiques sont donc des agents strictement antibactériens dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ce sont donc des "médicaments" qui ont pour effet soit d'empêcher la prolifération des bactéries soit de les tuer de façon ciblée. On parlera alors d'antibiotiques "bactériostatiques" ou "bactéricides" respectivement.

#### *1.4.5.2- Les antifongiques*

Les antifongiques sont des médicaments utilisés pour lutter contre les champignons. Ils ont la capacité de traiter les mycoses qui sont à l'origine de plusieurs infections pouvant être soit superficielles, sous-cutanées ou encore systémiques.

Selon l'activité qu'il exerce, un antifongique peut avoir un effet fongistatique (arrête la croissance des champignons) ou fongicide (détruit complètement la cellule fongique). Comparé aux infections bactériennes, le traitement des mycoses est souvent beaucoup plus difficile.

Les principaux médicaments possédant une activité antifongique sont :

- La nystatine.
- Le kétoconazole.
- Le fluconazole.
- La flucytosine.
- La griséofulvine.

#### ***1.4.6- Aperçu sur les techniques d'études in vitro du pouvoir antimicrobien***

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne in vitro d'une substance. Un grand nombre de techniques aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide est utilisé pour l'évaluation du pouvoir antimicrobien.

L'insolubilité de certains composés dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie a suscité le développement de nombreuses techniques pour les tests microbiologiques. Ces différentes techniques peuvent être classées

selon le milieu dans lequel se fait la diffusion du composé (liquide, solide ou gazeux.) [98,99]. Selon la souche microbienne, les composés testés et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

#### *1.4.6.1- Technique d'étude en vapeur*

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose l'échantillon à tester (généralement les huiles essentielles) sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on note après incubation, la croissance ou l'inhibition des germes [100].

#### *1.4.6.2- Méthode de dilution*

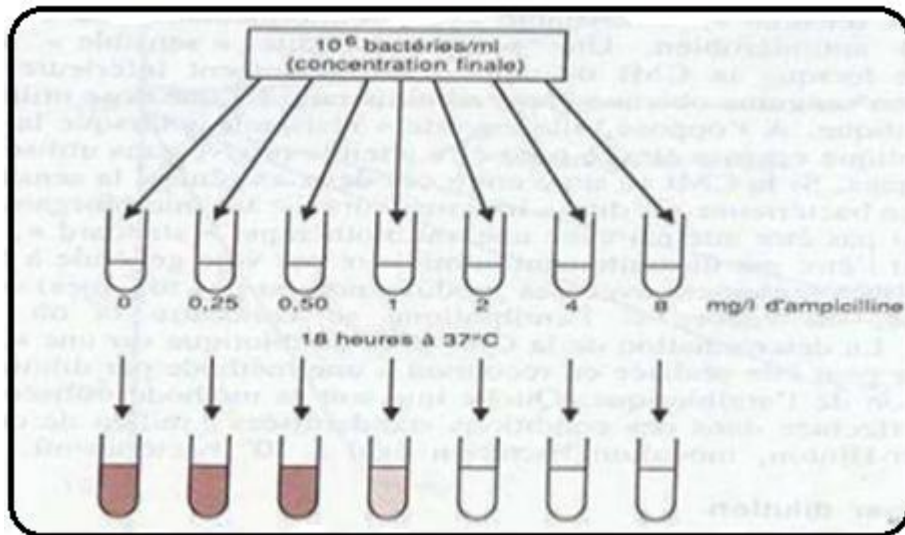
C'est la méthode de référence, qui peut être pratiquée en milieu liquide et solide.

#### *1.4.6.3- Méthode de dilution en milieu liquide*

La mesure de la CMI en milieu liquide [101] est effectuée de la manière suivante, on distribue dans un premier temps dans une série de tubes stériles, un même volume de concentrations décroissantes d'antibiotiques (habituellement en progression géométrique de raison 2). Puis on ajoute dans chacun des tubes, un même volume de culture bactérienne de façon à obtenir une concentration finale de  $10^6$  bactéries / ml. Après incubation la galerie préparée sera examinée à l'œil nu en la comparant avec un tube témoin. La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil après 18 ou 24 h de contact à 37°C. (Figure I.1)

La CMI dépend d'un certain nombre de facteurs qui influent sur l'action de l'antibiotique :

- Le milieu,
- Le nombre et l'état des bactéries,
- Le type d'observation.

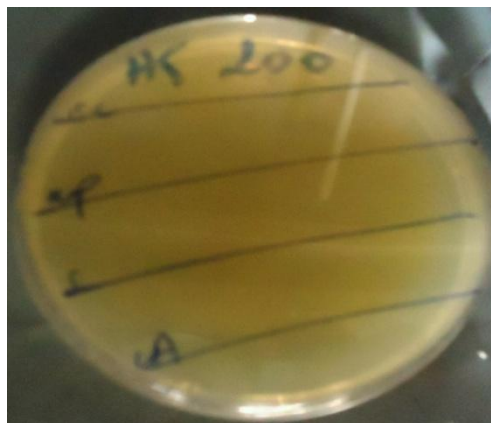


**Figure I.1** : Détermination de la CMI d'un antibiotique par dilution en milieu liquide.

#### *1.4.6.4- Méthode de dilution en milieu solide*

Le principe de la technique de dilution en milieu solide est identique, l'antibiotique étant ici incorporé dans la gélose maintenue à une température de 55°C. L'intérêt de cette technique de dilution en milieu solide réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes au moyen d'une série de boîtes de Pétri préparées avec différentes concentrations de la substance.

Cette technique consiste à incorporer la substance à étudier à une concentration donnée dans la gélose maintenue à une température de 55°C. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec différentes concentrations de la substance. Onensemence par la suite la surface du milieu gélosé préalablement préparé avec les diverses bactéries ciblées. Cette technique est illustrée par la figure I.2.



**Figure I.2** : Ensemencement des souches sous forme de stries avant incubation.

L'ensemencement est réalisé soit :

- D'une façon automatisée à l'aide d'un dispositif portant des tiges métalliques qui les déposent avec un même volume en forme de puits.
- Manuellement à l'aide d'une pipette pasteur sous forme de stries.

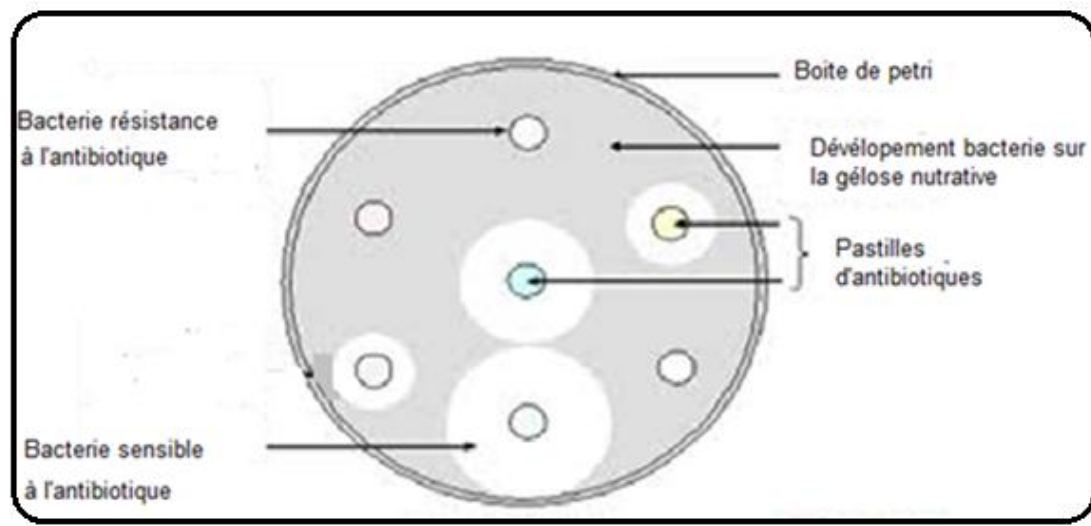
L'estimation du pouvoir antimicrobien se fait après incubation pendant 18 heures à 37°C en notant la croissance ou l'absence de croissance de chaque souche.

#### *1.4.6.5- Méthode de diffusion en milieu solide*

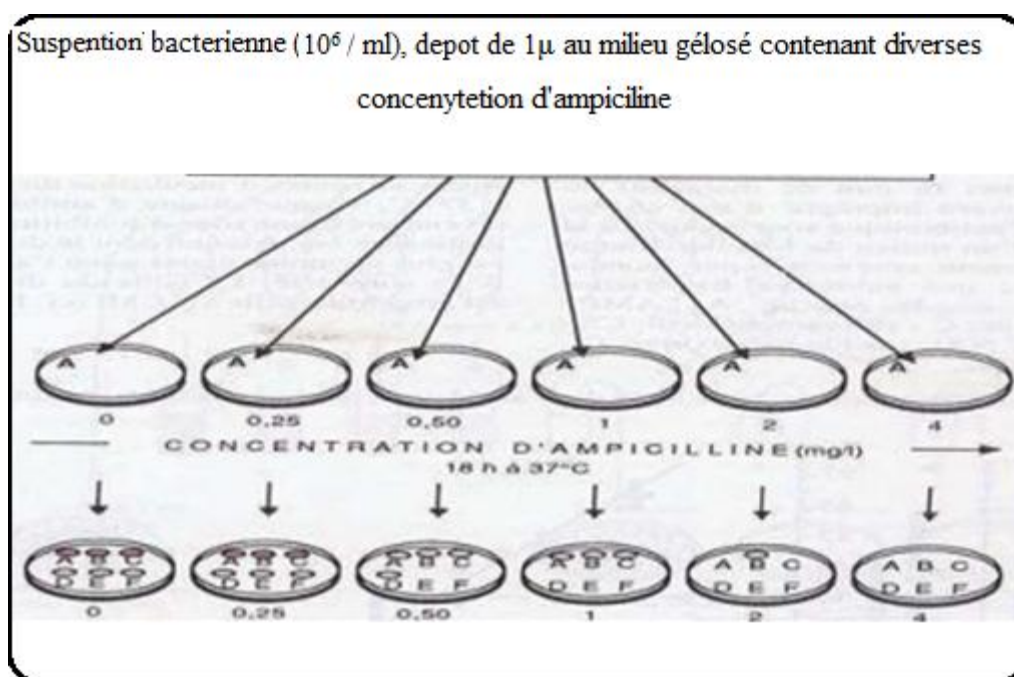
Elle est appelée aussi technique de " l'antibiogramme" (Figure I.3) Les disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (Müller Hinton), préalablement ensemencé avec la suspension bactérienne ciblée [102].

A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Les boîtes de Pétri (milieu de culture) sont incubées (18 h à 37 °C). A la lecture on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne : la multiplication des microorganismes s'arrête là où il existe une concentration d'antibiotique supérieur ou égale à la CMI. La figure I.4 montre une représentation théorique de cette technique.

Pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée.



**Figure I.3 : AntibioGramme**



**Figure I.4 : Détermination de la CMI d'un antibiotique par diffusion en milieu solide.**

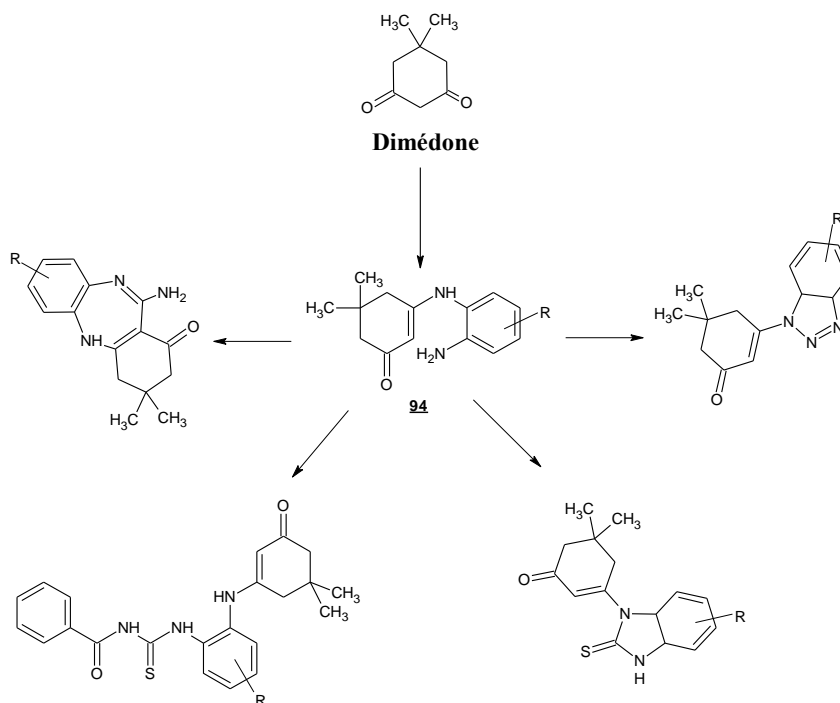
### ***I.4.7- Conclusion***

Nous avons pu voir au cours de cette revue bibliographique que les  $\beta$ -énaminones sont d'excellents candidats pour la conception de molécules à haut degré de fonctionnalisation. La faculté de ces systèmes polyvalents à réagir à la fois avec des électrophiles et des nucléophiles, permet en effet de générer une variété de molécules polyhétérocycliques d'intérêt biologique. Nous avons ensuite souligné les potentialités offertes par les hétérocycles à cinq et six chaînons (benzimidazole, 2- pyrone , pyrrolidine et pyrazole) dans le domaine de la chimie thérapeutique et l'intérêt porté par les chimistes à l'élaboration de ces structures. Ce thème de recherche sera donc approfondi au cours de ce mémoire.

### **I.5 - Objectifs de ce travail**

L'un des axes de recherche de notre laboratoire est l'utilisation des  $\beta$ -énaminones comme précurseurs clés pour l'élaboration d'une grande diversité de structures polyfonctionnalisées à intérêt biologique. En effet ces intermédiaires extrêmement précieux en synthèse organique, ont permis d'accéder à une large gamme de molécules hétérocycliques contenant des noyaux connus pour leurs bioactivités [103,104].

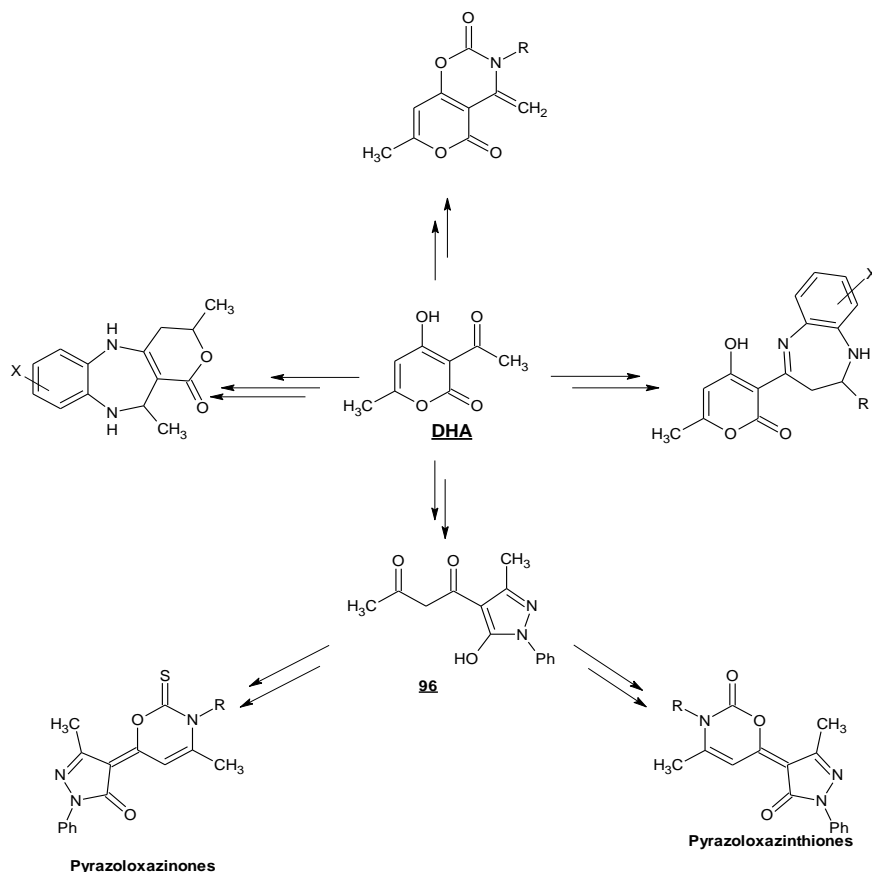
Dans des travaux plus récents, notre groupe de recherche a étudié la réactivité des énamino-dimédones **94** issues d'une autre 1,3-dicéto-cyclique (la dimédone) qui a fait l'objet de nombreux travaux. Ces énamino-dimédones se sont avérées être des synthons de choix pour la conception de différents squelettes incluant plusieurs motifs hétérocycliques [105,106] représentés sur le schéma I.11 ci après.



**Schéma I.11** -Les différents motifs issus des énamino-dimédones **94**

Depuis plusieurs années, notre équipe a mis à profit la réactivité de l'acide dehydroacétique, puissant outil synthétique, pour la mise au point de méthodologies originales qui ont généré, différents composés hétérocycliques [107-109].

La  $\beta$ -dicéto **96**, produit d'ouverture du cycle pyranique du DHA, a quand à elle, permis l'obtention des  $\beta$ -pyrazoloénaminones. Ces dernières engagées dans des réactions de cyclisation, ont conduit aux structures pyrazoloxazinones et pyrazoloxazinthiones [110]. (Schéma I.12)



**Schéma I.12** - Les différents composés hétérocycliques issus du DHA.

Nos travaux s'inscrivent dans la continuité des recherches menées au Laboratoire sur la chimie des  $\beta$ -énaminones. Afin de diversifier la gamme des molécules hétérocycliques, nous nous proposons de les utiliser comme briques moléculaires dans nos synthèses.

Dans ce contexte, nous avons envisagé de développer dans les prochains chapitres des voies d'accès à des dérivés benzimidazole **95** et à de nouvelles structures **98** incorporant à la fois les noyaux pyrazol, 2-pyrone et le motif pyrrolidine. Les stratégies de synthèse que nous avons adoptées impliquent comme précurseur clé les  $\beta$ -enaminodimédones **94** et  $\beta$ -pyrazoloenaminones **97** respectivement schéma I.13.

L'activité antimicrobienne de ces composés a été évaluée en collaboration avec Madame S. Merabtène chef d'unité du service des milieux de culture de l'institut Pasteur d'Alger.

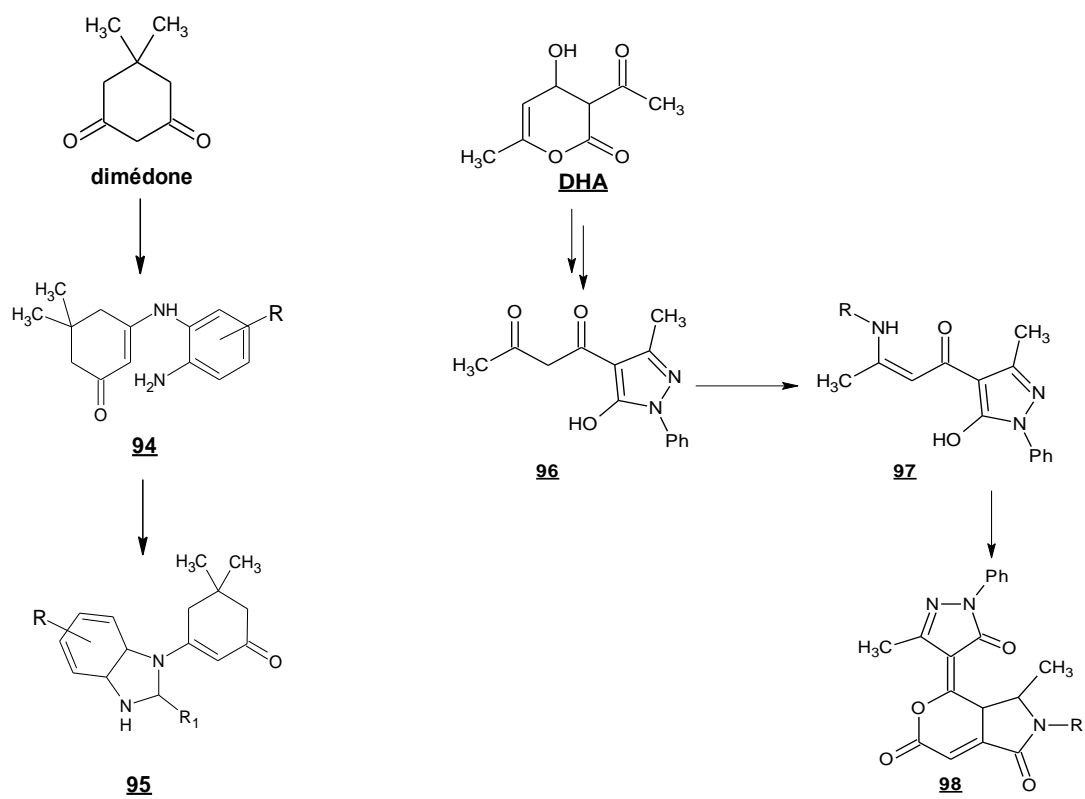


Schéma I.13- Voies des synthèses envisagées

## Références bibliographiques

- [1]- I. O. Edafiogho, K. V. V. Ananthalakshmi, S. B. Kombian, *Bioorg. Med. Chem*, 14, 5266, **2006**.
- [2]- S. B. Kombian, I. O. Edafiogho and K. V.V. Ananthalakshmi, *J. britannique de la Pharm*, 145, **2005**.
- [3]-M. Fujita, I. Susumo, A. Ota, K. Nobuharu, K. Yamamoto, J. Iwao, *Med. Chem*, 33, 1898, **1990**.
- [4]-N. K. Allam, E. A. Ashour, *Applied Surface Science*, 54, 5007, **2008**.
- [5]- C. Alan, A. C. Spivey, R. Srikanan, C. M. Diaper, J. David, D. Turner, *Org Biomol. Chem*, 1638, **2003**.
- [6] - H. M. Hassneen, T. A. Abdallah, *Molecules*, 8, 333, **2003**.
- [7]- Gholap, A. ; Todi, k. ; Shirazi, F. *Bioorg. Med Chem* , 15, 6705, **2007**.
- [8]- William, K.; Hagmann, C.-G.; Caldwell, L.-P. *Bioorg. Med. Chem*, 10, 1975, **2000**.
- [9] –A. Venkov, P. Angelov, *Synt. Com*, 33, 3025, **2003**.
- [10]- D. F. Martin, G. A. Janusonis, B. B. Martin, *J. Am. Chem. Soc* , 83, 73, **1961**.
- [11]- S. Zupancic, J. Svete, B. J. Stanovnik, *Heterocycl. chem*, 53, 2033, **2001**.
- [12]- S. G. Hegde, C. R. Jones, *Heterocycl. Chem*, 30, 1501, **1993**.
- [13]- R. San Martin, E. M. de Marigorta, E. Dominguez, *Tetrahedron. Lett*, 50, 2255, **1994**.
- [14]- L. V. Reis, A. M. Lobo, S. Prabhakar, *Tetrahedron. Lett*, 35, 2747, **1994**.
- [15]- G. Sorsak, S. G. Gradadolnik, B. Stanovnik, *Heterocycl. Chem*, 35, 1275, **1993**.
- [16]- A. Z. A. Al-Omran, A. Elassar, A. El-Khair, *Tetrahedron. Lett*, 57, 10163, **2001**.
- [17]- G. Dannhardt, Y. Geyer, R. Obergrusberger, K. Zieries, *Chemikerzig*, 11, 237, **1987**.
- [18]- G. Dannhardt, A. Bauer, *Pharmazie*, 51, 805, **1996**.
- [19]- M. H. Elnagdi, S.M. Fahmy, E.A. Hafez, M. R. H. Elmoghayer, S. A. R. Amer, *Heterocycl. Chem*, 16, 1109, **1979**.
- [20]- S. M. Couchman, J. C. Jeffery, M. D. Ward, *Polyhedron*, 18, 2633, **1999**.
- [21]- M. Calle, A. L. Calvo, A. González-Ortega, A. M. González-Nogal, *Tetrahedron. Lett*, 62, 611, **2006**.
- [22]- S. Batori, D. Dopp, A. Messmer, *Tetrahedron. Lett*, 50, 4699, **1994**.
- [23]- J. R. Friary, V. Seidl, H. J. Schwerdt, P. M. Cohen, D. Hou, M. Nafissi, *Tetrahedron. Lett*, 49, 7169, **1993**.
- [24] - H. Hebbache, Z. Hank, S. Boutamine, M. Meklati , C. Bruneau, *J.L. Renaud, C. R. Chimie*, 11, 612, **2008**.

- [25]- R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan, G. Majetich, *Tetrahedron. Lett*, 27, 8, **1986**.
- [26]- R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, *Tetrahedron. Lett*, 27, 82, **1986**.
- [27]- Y. Xu, Q. X. Guo, *Heterocycles*, 63, 903, **2004**.
- [28]- C. D. Dzierba, A. P. Combs, *Annu. Rep. Med. Chem*, 37, 247, **2002**.
- [29]- C. K. Z. Andrade, A. Fátima, S. Barreto, W. A. Silva, *Arkivoc*, 12, 226, **2008**.
- [30]- S. B. Sapkal, K. F. Shelke, B. B. Shingate, M. S. Shingare, *Tetrahedron. Lett*, 50, 1754, **2009**.
- [31]- A. Alizadeh, M. Babaki, N. Zohreh, *Tetrahedron. Lett*, 65, 1704–1707, **2009**.
- [32]- M. E. F. Braibante, H. T. S. Braibante, M. P. Uliana, C. C. Costa, M. Spenazzatto, *Braz. Chem. Soc*, 19, 909, **2008**.
- [33]- I. Yavari, Z. Hossaini, M. Sabbaghan, *Tetrahedron Lett*, 49, 844, **2008**.
- [34]- T. A. Farghaly, M. A. Abdallah, Z. A. Muhammad, *Molecules*, 16, 10420, **2011**.
- [35]- S. M. Al-Moussaoui, M. Sh. Moustafa, Beilstein, *org. Chem*, 3, 12, **2007**.
- [36]- R. Carmel, *Blood*, 112, 21, **2008**.
- [37]- a) J. E. Richter, *Am. Gastroenterol.* 92, 34, **1997**. b) J. C. Hazelton, B. Iddon, H. Suschitzky, L. H. Wolley, *Tetrahedron*, 51, 10771, **1995**. c) H. J. Al Muhaimed, *Int. Res*, 25, 175, **1997**.
- [38]- D. Kyle, R. R. Goehring, B. Shaoo, *Chem. Abstr*, 135, 33477, **2001**.
- [39]- a) Karen, K. Biron, *Antiviral. Res*, 71, 154, **2006**. b) J. M. Gardiner, C. R. Loyns, A. Burke, A. Khan, N. Mahmood, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 5, 1251, **1995**.
- [40]- R. Paramashivappa, P. Pani Kumar, P. V. Suba Rao, A. Srinivasa Rao, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 13, 657, **2003**.
- [41]- Li. Y. F. Wang, G. F. Luo, Y. Huang, W. G. Tang, W. Feng, C. L. Shi, L. P. Ren, Y. D. Zuo, J. P. Lu, W. *Med. Chem*, 42, 1358, **2007**.
- [42]- W. B. Young, P. Sprengeler, W. D. Li. Y. Shrader, R. Rai, E. Verner, T. Jenkins, P. Fatheree, A. Kolesnikov, J. W. Janc, L. Cregar, K. Elrod, B. Katz, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 16, 710, **2006**.
- [43]- M. M. Ramla, M. A. Omar, H. Tokuda, H. I. El-Diwani, *Bioorg. Med. Chem*, 15, 6489, **2007**.
- [44]- V. R. Shingalapur, K. M. Hosamani, R. S. Keri, *Med. Chem*, 44, 4244, **2009**.
- [45]- C. S. Radatz, R. B. Silva, G. Perin, E. J. Lenardão, R. G. Jacob, D. Alves, *Tetrahedron. Lett*, 52, 4132, **2011**.

- [46]- R. Adlington, J. Baldwin, D. Catterick, G. Pritchard, *Chem. Soc. Perkin. Trans*, 1, 668, **2001**
- [47]- G. Navarrete-Vazquez, H. M. Diaz, F. A. Crespo, I. L. Rivera, R. V. Molina, O. M. Muñoz, S. E. Soto, *Bioorg. Med. Chem Lett*, 16, 4169, **2006**.
- [48]- A. Ben Allouma, K. Bougrin, M. Soufiaoui, *Tetrahedron. Lett*, 44, 5935, **2003**.
- [49]- R. Abonia, E. Cortés, B. Insuasty, J. Quiroga, M. Nogueras, J. Cobo, *Med. Chem*, 46, 4062, **2011**.
- [50]- a) T. S. Haque, et al, *J. Med. Chem*, 45, 4669, **2002**. b) J. A. Pfifferkorn, *Med. Chem*, 51, 31, **2008**. c) Z. K. Sweeney, *Med. Chem*, 51, 7449, **2008**. d) J. Velcicky, *Bioorg. Med. Chem Lett*, 20, 1293, **2010**.
- [51]- S.G. Kucukguzel, S. Rollas; H. Erdeniz; M. Kiraz; A. C. Ekinici, A. Vidin, *Med. Chem*, 35, 761, **2000**.
- [52]- V. K. Tandon, D. B. Yadav, A. K. Chaturvedib, P. K. Shukla, *Bioorg. Med. Chem*. 15, 3288, **2005**.
- [53]- M. J. Genin, C. Biles, B. J. Keiser, S. M. Poppe, S. M. Swaney, W. G. Tarpley, Y. Yagi, D. L. Romero, *Med. Chem*, 43, 1034, **2000**.
- [54]- G. Daidone, B. Maggio, S. Plescia, D. Raffa, C. Musiu, C. Milia, G. Perra, M. E. Marongiu, *Med. chem*, 33, 375, **1998**.
- [55]- L. Navidpour, H. Shafaroodi, K. Abdi, M. Amin, M. H. Ghahreman, A. R. Dehpour, A. Shafiee, *Bio. Med.Chem.* 14, 2507, **2006**.
- [56]- T. Nagametsu, T. Fujita, K. Endo, *Chem. Soc. Perkin Trans*, 1, 33, **2000**.
- [57]- R. N. Comber, R. J. Gray, J. A. Secrist, *Carbohydrate Research*, 216, 441, **1991**.
- [58]-N. K. Terrett, A. S. Bell, D. Brown, P. Ellis, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 6, 1819, **1996**.
- [59]- L. M. Cole, R. A. Nicholson, J. E. Casida, *Pestic. Biochem. Physiol*, 46, 47, **1993**.
- [60]-A. Mange, J. A. Palop, I.Urbasos, E. Fernandez-Alvarez, *J. Heterocycl. Chem*, 26, 1623, **1989**.
- [61]- M. A. Ortega, M. E. Montoya, B. Zarranz, A. Jaso, I. Aldana, S. Leclerc, L. Meijerc, A. Mongea, *Bioorg. Med. Chem*, 10, 2177, **2002**.
- [62]- V. Colotta, D. Catarzi, F. Varano, G. Filacchioni, C. Martini, L. Trincavellib, A. Lucacchinib, *Il farmaco*, 59, 71, **2004**.
- [63]- J. T. Witkowski, R. K. Robins; G. P. Khare, R. W. Sidwell, *Med. Chem*, 16, 935, **1973**.
- [64]- L. Wu, M. Shi, *Org. Chem*, 75, 2296, **2010**.
- [65]- O. Rosati, M. Curini, M.C. Marcotullio, A. Macchiarulo, M. Perfumi, L. Mattioli, F.

- Rismondo, G. Cravotto, *Bioorg. Med. Chem*, 15, 3463, **2007**.
- [66]- A. R. Katritzky, M. Wang, S. Zhang, M. V. Voronkov, P. J. Steel, *Org. Chem*, 66, 6787, **2001**.
- [67]- Blass, B. E.; Srivastava, A.; Coburn, K. R.; Faulkner, A. L.; Janusz, J. J. Ridgeway, J. M. Seibel, W. L. *Tetrahedron Lett.*, 45, 619, **2004**.
- [68]- K. Y. Lee, J. M. Kim, J. N. Kim, *Tetrahedron. Lett*, 44, 6737, **2003**.
- [69]- K. Y. Lee, S. Gowrisankar, J. N. Kim, *Tetrahedron. Lett*, 5387, **2005**.
- [70]- W. Zhai, S. W. Gerritz, M. J. Sofia, *Tetrahedron. Lett*, 53, 267, **2012**.
- [71]- K. Kumari, D. S. Raghuvanshi, V. Jouikov, K. N. Singh, *Tetrahedron. Lett*, 53, 1130, **2012**.
- [72]- I. Mastouri, A. Baklouti, *Soc. Chim. Tunisie*, 10, 93, **2008**.
- [73]- V. Boucard, G. Broustal, J. M. Campagne, *Org. Chem*, 2, 225, **2007**.
- [74]- a) B. Shi, M. F. Greaney, *Chem. Commun*, 41, 886, **2005**. b) A. Fatima, L. K. Kohn, J. E. Carvalho, R. A. Pilli, *Bioorg. Med. Chem*, 14, 622, **2006**. c) T. Takeuchi, N. Takahashi, K. Ishi, T. Kusayanagi, K. Kuramochi, F. Sugawara, *Bioorg. Med. Chem*, 17, 8113, **2009**.
- [75]- A. Gidden, L. Nielsen, H. I. Boshoff, D. Tasdemir, R. Perrotto, M. Kaiser, F. Wang, J. C. Sacchetti, B. Copp, *Tetrahedron. Lett*, 64, 1242, **2008**.
- [76]- a) U. Seitz, A. Ameri, H. Pelzer, J. Gleitz, T. Peters, *Planta. Med*, 63, 303, **1997**.  
b) K. Schirmacher, D. Busselber, J. M. Langosch, J. Walden, U. Winter, D. Bbingmann, *Eur. Neuropsychopharmacol*, 2, 171, **1999**.
- [77]- J. Fried, *Heterocyclic compounds*. R.C. Elderfield, Wiley, New York, Vol 1, chapitre 7, **1950**.
- [78]- Q. Zang, J.J. Zhai, Y.R. Zhang, *Transit. Metal. Chem*, 25, 93, **2000**.
- [79]- R. N. Kumar, H. M. Meshram, *Tetrahedron. Lett*, 52, 1003, **2011**.
- [80]- D. Carmona, J. Saez, H. Granados, E. Perez, S. Blair, A. Angulo, B. Figadere, *Nat. Prod. Res*, 17, 275, **2003**.
- [81]- A. Tanaka, N. Hamada, Y. Fujita, T. Itoh, Y. Nozawa, M. Iinuma, M. Ito, *Bioorg. Med. Chem*, 18, 3133, **2010**.
- [82]- S. M. Lee, W. G. Lee, Y. Chul Kim, H. Ko, *Bioorg. Med. Chem*, 21, 5726, **2011**.
- [83]- a) A. B. Penissi, M. E. Vera, M. L. Mariani, M. I. Rudolph, J. P. Ceol, J. C. de Rosas, T. H. Fogal, C. E. Tonn, L. S. Favier, O. S. Giordano, R. S. Piezzi, *Pharmacol*, 612, 122, **2009**. b) G. Lyb, A. Knorre, T. J. Schmidt, H. L. Pahl, I. J. Merfort, *Biol. Chem*, 273, 33508, **1998**.

- [84]- G. E. Keck, C. E. Knutson, *Org. Lett*, 1, 411, **1999**.
- [85]- I. Hachiya, H. Shibuya, M. Shimizu, *Tetrahedron. Lett*, 44, 2061, **2003**.
- [86] - H. Cao, H. Zhong, Y. Lin, L. Yang, *Tetrahedron*, 68, 4042, **2012**.
- [87]- C. Y. Hong, Y. K. Kim, J. H. Chang, S. H. Kim, H. Choi, D. H. Nam, Y. Z. Kim, J. H. Kwak, *Med. Chem*, 40, 3584, **1997**.
- [88]- E. Gaudernak, J. Seipelt, A. Triendl, A. Grassauer, E. Kuechler, *Virology*, 76, 6004, **2002**.
- [89]- A. Inda, H. Nishino, M. Kuchide, J. Takayasu, T. Mukainaka, Y. Nobukuni, M. Okuda, H. Tokuda, *Biol.Pharm. Bull*, 24, 1282, **2001**.
- [90]- J. K. Whitesell, *Chem. Rev*, 89, 1581, **1989**.
- [91]- J. D. White, Q. Xu, C. S. Lee, F. A. Valeriote, *Org. Bio. Chem*, 2, 2092, **2004**.
- [92]- P. Merino, J. Revuelta, T. Tejero, U. Chiacchio, A. Rescifina, A. Piperno, G. Romeo, *Tetrahedron. Asymmetry*, 13, 167, **2002**.
- [93]- R. Ballini, G. Bosica, M. Damiani, P. Righi, *Tetrahedron Lett*, 55, 13451, **1999**.
- [94]- R. B. Moffet, *Org. Synth*, 5, 357, **1952**.
- [95]- P. K. Mishra, S. Sun, A. Maden, W. V. Murray, *Tetrahedron Lett*, 43, 7389, **2002**.
- [96]- Y. H. Wu, R. F. Feldkamp, *Org. Chem*, 26, 1519, **1961**.
- [97]-PRESOTT,HARLEY, KLEIN. *Microbiologie*. 5<sup>ème</sup> édition Américaine. Boeck. France.1133p,ISBN : 2-8041-4256-6.
- [98]- L. Zaika, *Food Safety*, 9, 97, **1988**.
- [99]- M. D. Smith, P. L. Navilliat, *Microbiol. Meth*, 28, 21, **1997**.
- [100] -M. F. Beylier-Maurel, *Rivista Italia E.P.P.O.S.*, 58, 283, **1976**.
- [101]- L. Navidpour, H. Shafaroodi, K. Abdi, M. Amin, M. H. Ghahreman, A. R. Dehpour, A. Shafiee, *Bio. Med.Chem. Lett*, 14, 2507, **2006**.
- [102]- S. A. Burt, R. D. Reinders, *Appl, Microbiol, Lett*, 36, 162, **2003**.
- [103]- V. Poroikov, A. Lagunin, D. Filimonov, In: *QSAR and Molecular Modelling in Rational design of Bioactive Molecules*, Esin Aki Sener, Ismail Yalcin, Eds.: CADD & D Society: Ankara, Turkey, p 514, **2005**.
- [104]- a) L. J. Crofford, *Rheumatol*, 24, 15, **1997**. b) T. Kosaka, A. Miyata, H. Ihara, *Biochem.*, 221, 889, **1994**.

- [105]- N. Bennamane, R. Kaoua, L. Hammal, B. Nedjar-Kolli, *Org. Commun.* 1, 62, **2008**.
- [106]- N. Bennamane, K. Zaïoua, Y. Akacem, R. Kaoua, Y. Bentarzi, S. Bakhta, B. Nedjar-Kolli, L. Ouhab, *Org. Commun.*, 2, 49, **2009**.
- [107]- M. Fodili, M. Amari, B. Kolli, A. Robert, M. Baudy-Floc'h, P. L. Grel, *Synthesis*, 5, 811, **1999**.
- [108]- M. Amari, B. Nedjar-Kolli, *J. Soc. Alg. Chim*, 11, 77, **2001**.
- [109]- M. Amari, *Thèse de doctorat d'état*, USTHB, Alger, **2003**.
- [110]- a) N. Bennamane, B. Nedjar-Kolli, Y. Bentarzi, L. Hammal, A. Geronikaki, P. Eleftheriou, A. Lagunin, *Bioorg. Med. Chem.* 16, 3059, **2008**. b) N. Bennamane, B. Nedjar-Kolli, A. A. Geronikaki, P. Eleftheriou, R. Kaoua, K. Boubekeur, P. Hoffman, S. S. Chaudhary, A. K. Saxenaf, *arkivoc*, 2, 69, **2011**.

**Chapitre II**  
**Réactivité des  $\beta$ -énaminodimédones:**  
**Synthèse des structures**  
**benzimidazoles**

## II.1- Introduction

Compte tenu de l'importance synthétique des 1,3-dicétones et de leur grande réactivité, nous avons envisagé dans cette partie l'exploitation de ces fonctions dans la dimédone (1,3-dicétone cyclique) utilisée comme produit de base dans la succession de réactions conduisant à la structure benzimidazole via les énamino-dimédones **94**. En effet, nous avons, dans une première étape, synthétisé les dérivés intermédiaires **94** dont l'étude de la réactivité vis-à-vis des aldéhydes masqués (DMF-DMA et DMA-DMA), a permis d'accéder, dans une deuxième étape, à une série de composés présentant le noyau benzimidazole N-substitué **95** qui se distingue par son haut potentiel en chimie médicinale.

## II.2- Synthèse des intermédiaires énamino-dimédones **94**, précurseurs du noyau benzimidazole

Les  $\beta$ -énamino-dimédones **94** sont générées par action de (11 mmol, 1.1 éq) d'ortho-phénylènediamines sur (10 mmol, 1 éq) de dimédone en utilisant deux techniques, au reflux de l'éthanol et sous chauffage aux micro-ondes à 300 W en l'absence de solvant (avancement de la réaction suivi par CCM) selon le schéma réactionnel II.1 ci-après [1]. Les données physiques et les rendements obtenus selon les deux techniques de synthèse de ces dérivés sont rassemblés dans le tableau II.1.

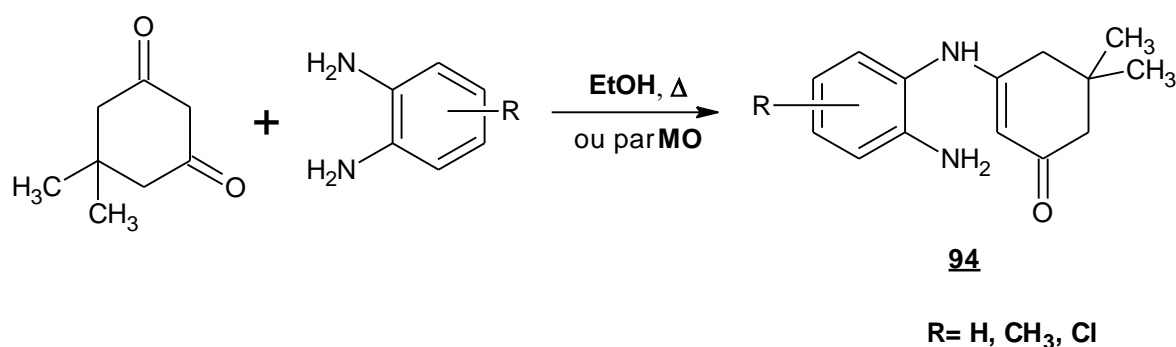


Schéma II.1: Synthèse des dérivés **94**

**Tableau II.1:** Propriétés physiques et synthèse des dérivés **94** selon deux méthodes.

Dérivés	R	EtOH à reflux		Micro-ondes		T <sub>f</sub> (°C)
		Rdt %	Temps (h)	Rdt %	Temps (mn)	
<b>94a</b>	H	78	8	82	13	163-165
<b>94b</b>	CH <sub>3</sub>	75	9	81	20	182-184
<b>94c</b>	Cl	71	12	75	28	188-190

Ces résultats montrent que, par rapport au chauffage classique, l'activation aux micro-ondes en milieu sec a été d'un grand apport tant du point de vue réduction des temps de réaction, que de l'augmentation des rendements réactionnels.

### II.3- Caractérisation des précurseurs **94**

#### II.3.1- Spectroscopie IR

L'étude des spectres IR des dérivés **94 a-c** pris en suspension dans KBr montre la présence de deux bandes fine et intense à 1241-1351 cm<sup>-1</sup> et 1631-1665 cm<sup>-1</sup> caractéristiques des vibrations des groupements C-N et C=O respectivement (Tableau II.2).

Une autre bande plus intense apparait entre 3196-3322 cm<sup>-1</sup> est attribuée à la vibration N-H et deux bandes de vibration entre 3302- 3501cm<sup>-1</sup> relatives au NH<sub>2</sub>

**Tableau II.2 :** Donnés IR des précurseurs **94**

Composés	R	IR (KBr) ; ν cm <sup>-1</sup> .			
		C=O	NH <sub>2</sub>	NH	C-N
<b>94a</b>	H	1665	3447 et 3302	3322	1334
<b>94b</b>	CH <sub>3</sub>	1631	3468 et 3333	3196	1241
<b>94c</b>	Cl	1638	3501 et 3435	3304	1352

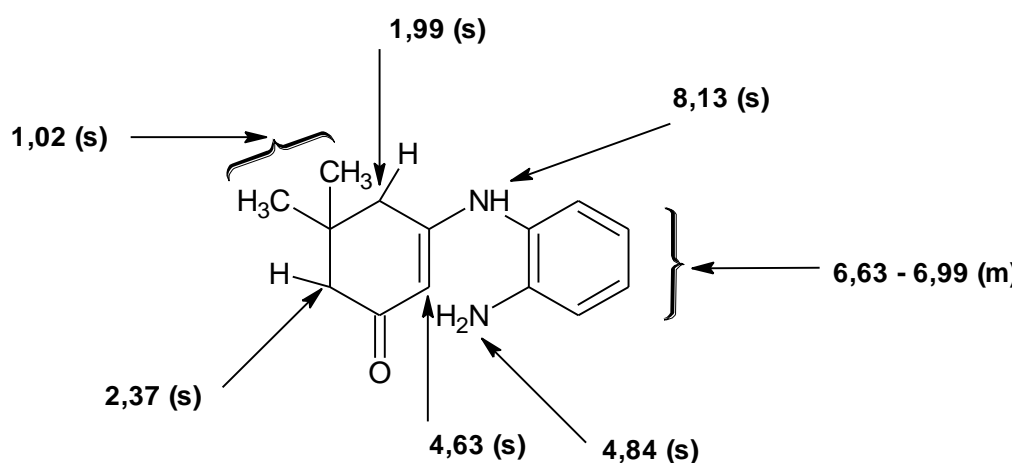
### II.3.2- Spectroscopie RMN <sup>1</sup>H

La structure des intermédiaires **94** a été confirmée par la RMN du proton réalisée dans le DMSO-d<sub>6</sub>, l'attribution des signaux est reportée dans le tableau II.3, elle appuie la structure attendue.

**Tableau II. 3:** RMN <sup>1</sup>H (δ ppm) des précurseurs **94**.

Composés	R	RMN <sup>1</sup> H (δ ppm) (400MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )
<b>94a</b>	H	1,02 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ); 1,99 (s, 2H, NC-CH <sub>2</sub> ); 2,37 (s, 2H, OC-CH <sub>2</sub> ); 4,63 (s, 1H, =CH); 4,84 (s, 2H, NH <sub>2</sub> ); 6,63-6,99 (m, 4H, Ar); 8,13 (s, 1H, NH).
<b>94b</b>	CH <sub>3</sub>	1,01 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ); 1,98 (s, 2H, NC-CH <sub>2</sub> ); 2,35 (s, 2H, OC-CH <sub>2</sub> ); 4,62 (s, 1H, =CH); 4,75 (s, 2H, NH <sub>2</sub> ); 6,36-6,78 (m, 3H, Ar); 8,06 (s, 1H, NH)
<b>94c</b>	Cl	1,02 (s, 6H, 2CH <sub>3</sub> ); 2,00 (s, 2H, NC-CH <sub>2</sub> ); 2,36 (s, 2H, OC-CH <sub>2</sub> ); 4,61 (s, 1H, =CH); 5,19 (s, 2H, NH <sub>2</sub> ); 6,53-6,92 (m, 3H, Ar); 8,11 (s, 1H, NH).

Nous donnons à titre d'exemple les attributions des déplacements chimiques en RMN <sup>1</sup>H pour le dérivé **94a** (Schéma II.2).



**Schéma II. 2 :** Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H (δ ppm) du dérivé **94a**

## II.4- Synthèse des benzimidazoles 95

Les structures benzimidazoles 95a-c ont été obtenues en procédant à la réaction d'hétérocyclisation des intermédiaires 94 en présence de l'aldéhyde masqué le DMF- DMA (N,N-diméthylformamide diméthyle acétal,  $R_1=H$ ). Afin d'examiner l'effet induit par l'introduction d'un groupement méthyle en position 2 du noyau benzimidazole sur les propriétés antimicrobiennes, nous avons utilisé un autre dérivé le DMA-DMA (N,N-diméthylacetamide diméthyle acétal,  $R_1=CH_3$ ) qui a permis d'accéder aux 2-méthylbenzimidazoles 95d-f. Dans le but d'apprécier les paramètres expérimentaux, les diverses réactions ont été réalisées en utilisant dans les mêmes conditions, deux voies de synthèse : Le chauffage au reflux du solvant et la technique « couplage milieu sec / irradiation micro-ondes ».

### II.4.1- Réaction au reflux du solvant

Dans ce cas le noyau benzimidazoles 95 est formé (Schéma II.3) en soumettant les énamino-dimédones 94 à l'action des aldéhydes masqués  $R_1C(OMe)_2NMe_2$  au reflux du dichlorométhane en présence d'acide acétique comme catalyseur. L'évolution de la réaction suivie par CCM, montre à chaque fois l'obtention d'un produit unique. La réaction dure quelques heures (8h-12h). Nous avons, à chaque fois, isolé par évaporation puis recristallisation dans l'éthanol, les produits ciblés avec des rendements allant de 62 à 75%. Leurs données physiques sont reportées sur le tableau II.4.

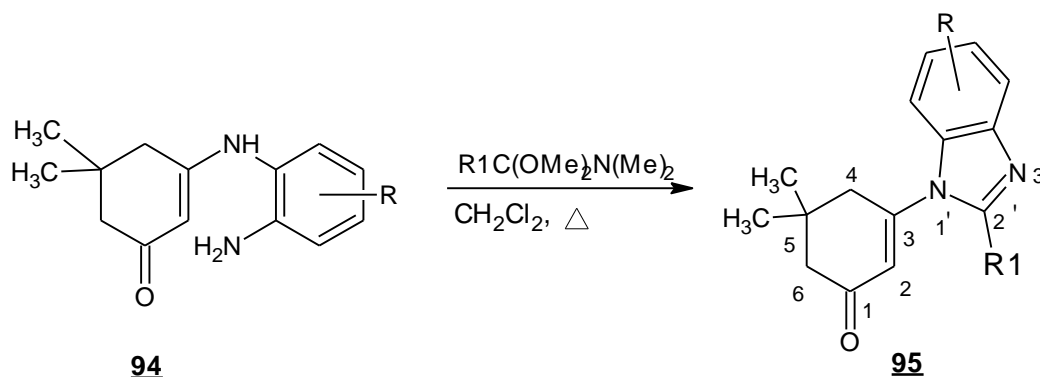


Schéma II. 3: Synthèse des benzimidazoles 95

Tableau II. 4: Propriétés physiques des dérivés benzimidazoles 95

Composés	<u>95a</u>	<u>95b</u>	<u>95c</u>	<u>95d</u>	<u>95e</u>	<u>95f</u>	
<b>R</b>	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	CH <sub>3</sub>	Cl	
<b>R<sub>1</sub></b>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	
<b>Rdt %</b>	75	62	65	64	75	70	
<b>Temps (h)</b>	6	6	8	8	9	9	
<b>T<sub>f</sub> (°C)</b>	180-182	196-198	210-212	188-190	190-192	220-222	
<b>Couleur</b>	blanc	marron	bleu-foncé	blanc	Jaune	gris	
<b>I.R(KBr)</b>	<b>ν C=N</b>	1506	1504	1507	1534	1530	1525
	<b>ν C=O</b>	1649	1660	1646	1635	1667	1673

#### II.4.2- Réaction sous irradiation aux micro-ondes

Cette nouvelle technique est largement utilisée dans la synthèse de molécules actives en raison du grand intérêt qu'elle présente par rapport au chauffage classique ainsi que pour la protection de l'environnement. Ceci nous a incités à l'appliquer à la réaction précédente. Dans ces conditions, nous avons opéré à sec à et à une puissance de 300 W. La fin de la réaction est ainsi confirmée par CCM avec des temps d'irradiation variant entre 14 – 45 minutes suivant la nature du substituant. Le produit final récupéré a été recristallisé dans l'éthanol. Le tableau II.5 présente les résultats des deux réactions réalisées selon les deux techniques.

**Tableau II.5 :** Synthèse des dérivés 95 dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à reflux et par chauffage micro-ondes.

Dérivés	R	R <sub>1</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> à reflux		Micro-ondes (300W)	
			Rdt %	Temps (h)	Rdt %	Temps (min)
<u>95a</u>	H	H	75	6	70	30
<u>95b</u>	CH <sub>3</sub>	H	65	6	64	45
<u>95c</u>	CL	H	62	8	74	40
<u>95d</u>	H	CH <sub>3</sub>	64	8	75	18
<u>95e</u>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	75	9	69	16
<u>95f</u>	CL	CH <sub>3</sub>	70	9	73	14

La synthèse des benzimidazoles 95 utilisant le chauffage conventionnel, nécessite des temps de reflux compris entre 6 et 9 heures. En revanche l'utilisation des irradiations aux

micro-ondes s'est révélée efficace et rapide. En effet elle a permis de réduire les temps réactionnels de façon très significative (entre 15 et 45 minutes) et d'obtenir ces composés avec des rendements similaires à ceux obtenus par chauffage conventionnel voire supérieurs dans certains cas.

## **II.5- Caractérisation spectrale des structures benzimidazoles 95**

Les méthodes spectroscopiques usuelles de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR et spectrométrie de masse Electrospray en mode positif (ESI) ont servi comme outils de base pour établir les structures des produits 95 obtenus.

### ***II.5.1- Spectroscopie IR***

L'étude des spectres infrarouge des dérivés 95, pris dans le KBr, montre la disparition de la bande d'absorption du  $\text{NH}_2$  dans l'intervalle  $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ . Elle indique aussi la présence d'une bande d'absorption entre  $1646 - 1673\text{ cm}^{-1}$  due au groupement  $\text{C}=\text{O}$  et une autre bande entre  $1504 - 1534\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de groupement  $\text{C}=\text{N}$ . (Tableau II.3). Ces premières données militent en faveur de la structure 95 attendue.

### ***II.5.2- Spectroscopie de RMN***

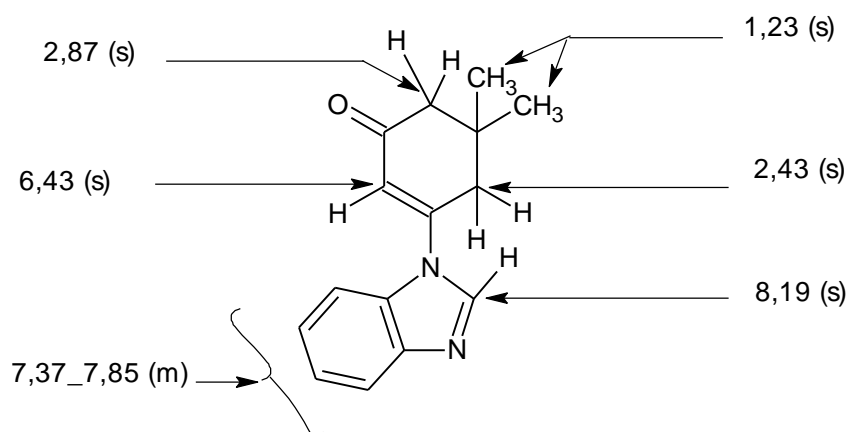
#### ***II .5.2.1- RMN du proton***

Une analyse des spectres de RMN $^1\text{H}$  des produits 95 enregistrés dans le  $\text{CDCl}_3$  à 400 MHz, indique la disparition des signaux relatifs aux protons des groupements  $\text{NH}_2$  (~ 5 ppm) et  $\text{NH}$  (~ 8,1 ppm) des précurseurs 94 ce qui atteste de leur participation dans la réaction d'hétérocyclisation.

On note aussi:

- Pour les dérivés 95a-c ( $\text{R}_1 = \text{H}$ ), la présence d'un nouveau singulet à environ 8,2 ppm dont l'intégrale correspond parfaitement au proton porté par le carbone  $\text{C}_2$  du cycle imidazole.
- Pour les dérivés 95d-f ( $\text{R}_1 = \text{CH}_3$ ), l'apparition d'un nouveau singulet résonnant à 2,60 ppm attribuable au méthyle introduit sur le  $\text{C}_2$  du cycle benzimidazole.

Nous donnons dans le schéma II-4 les différents déplacements chimiques du dérivé **95a**



**Schéma II.4** : Caractéristiques spectrales RMN  $^1\text{H}$  du dérivé **95a**.

### II.5.2.2-RMN du carbone 13

La structure des produits **95** a été appuyée par la RMN du carbone 13 (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) qui montre notamment :

- ❖ Pour les dérivés **95a-c** ( $R_1 = \text{H}$ ), la présence du signal caractéristique du carbone  $\text{C}_2$  de la fonction imine ( $\text{HC}=\text{N}$ ) qui apparaît à environ 140 ppm.
- ❖ Pour les dérivés **95d-f** ( $R_1 = \text{CH}_3$ ), l'apparition de deux nouveaux signaux à 15 et 150 ppm correspondants respectivement au carbone du groupement méthyle en  $\text{C}_2$  et à celui de l'imine ( $\text{HC}=\text{N}$ ).

Nous indiquons sur le schéma II.5 les différentes attributions des déplacements chimiques en RMN  $^{13}\text{C}$  **95a**.

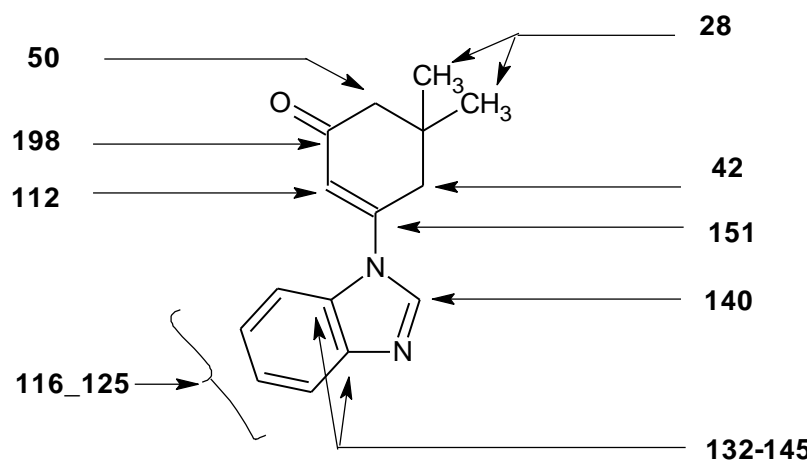


Schéma II.5 : Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  du dérivé **95a**.

### II.5.3- Spectrométrie de masse

Les spectres de masse ESI en mode positif de tous les produits **95** confirment également la structure par la présence systématique de l'ion quasi-moléculaire  $[\text{M} + \text{H}]^+$  correspondant à la formule globale attendue. (Tableau II.6).

Tableau II.6 : Spectrométrie ESI des composés **95**

Produit	<b>95a</b>	<b>95b</b>	<b>95c</b>	<b>95d</b>	<b>95e</b>	<b>95f</b>
<b>R</b>	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	CH <sub>3</sub>	Cl
<b>R<sub>1</sub></b>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>m/z [M]<sup>+</sup> Théorique</b>	240	254	274	254	268	288
<b>m/z [M+H]<sup>+</sup></b>	241	255	275	255	269	289

## II.6- Proposition du mécanisme réactionnel

La formation des composés **95** peut être expliquée par le mécanisme suivant (Schéma II.6).

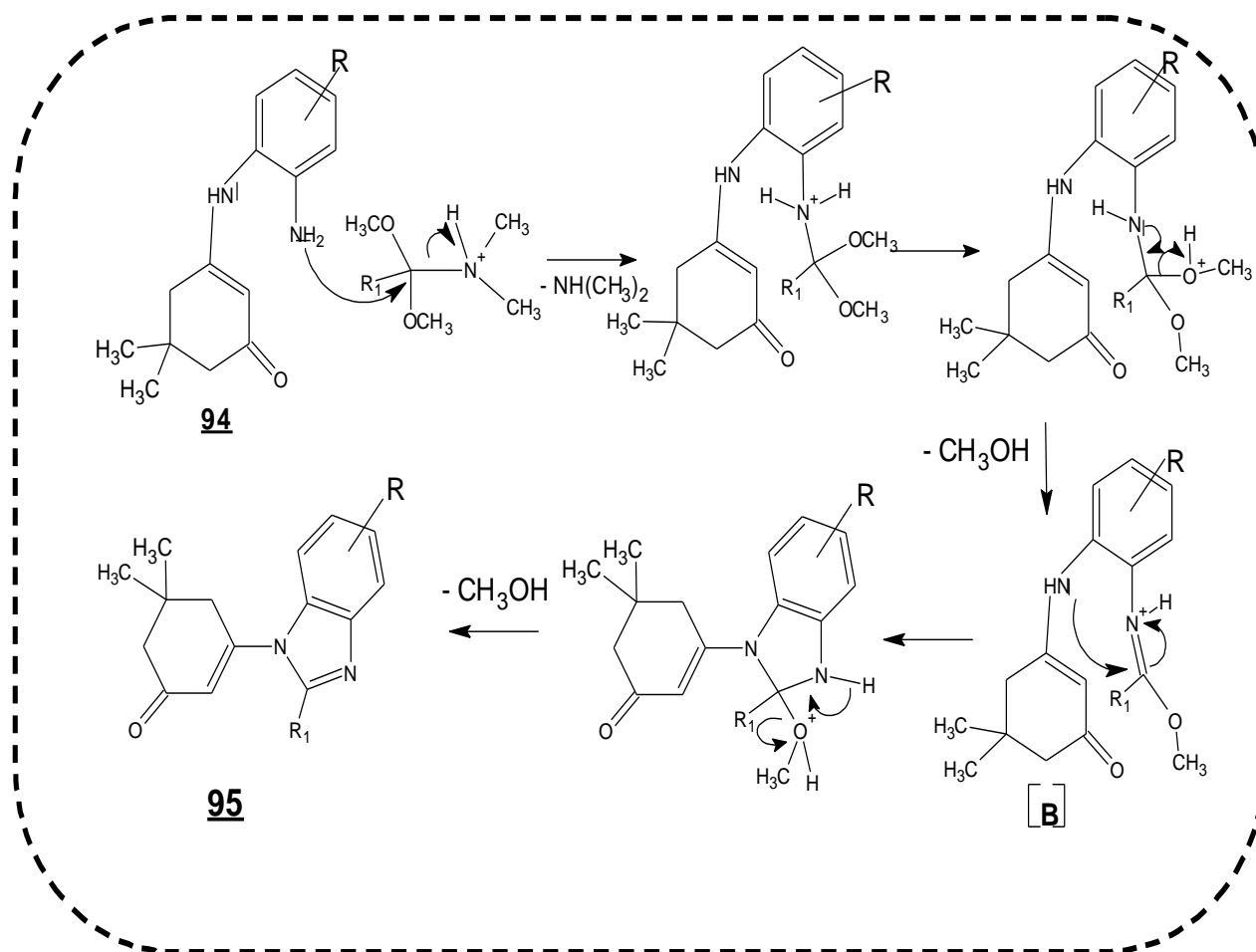


Schéma II.6 : Mécanisme de formation des composés **95**.

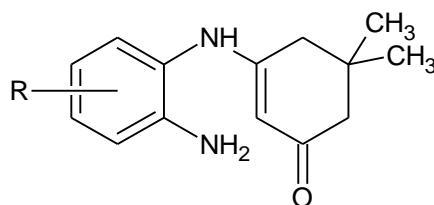
La réaction est amorcée par l'attaque de l'azote du groupement  $\text{NH}_2$  des énamines **94** sur le carbone diméthoxylé du DMA-DMA ou DMF-DMA. L'élimination successive d'une molécule de diméthylamine et de méthanol conduit à l'ion intermédiaire **[B]** qui cyclise en benzimidazole **95**, par l'implication de l'amine secondaire et la perte d'une deuxième molécule de  $\text{CH}_3\text{OH}$ .

## Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons préparé en une seule étape des composés incorporant le noyau benzimidazole au départ des énamines **94** issues de la dimédone peu coûteuse. Deux techniques ont été utilisées, le chauffage classique et sous micro-ondes en milieu sec. L'irradiation sous micro-ondes a permis de réduire considérablement les temps réactionnels et d'obtenir des rendements comparables à ceux obtenus par chauffage classique voire supérieurs dans certains cas. Nous avons également proposé un mécanisme de formation des benzimidazoles **95**. Ces derniers feront l'objet d'une étude de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de divers germes.

## Partie expérimentale

### Procédé général d'obtention des composés de structure 94



#### Méthode A : Chauffage classique

A (3 mmol, 1eq) de la démidone solubilisées dans 12 ml d'éthanol, est additionné (3,3 mmol, 1,1eq) d'orthophénylènesdiamines substituées. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à reflux, le suivie de la réaction a été réalisé par chromatographie sur couche mince avec le mélange acétate d'éthyle/méthanol comme éluant dans un rapport 97/3. Après évaporation partielle (6 ml) du solvant, le brut réactionnel est lavé avec l'éther. le précipité formé est filtré puis séché pour donner l'énaminone 94 sous forme de poudre.

#### Méthode B : Irradiation par micro-ondes

Un tube pyrex contenant (1mmol, 1éq) de la démidone, (1.1mol, 1.1éq) d'orthophénylènesdiamines est introduit dans un four micro-ondes. On procède alors à des activations d'une minute à une puissance de 300W. Les réactions ont été suivies par CCM dans l'éluant acétate d'éthyle/méthanol dans un rapport 97/3. Le brut réactionnel est lavé à l'éther, le précipité formé est filtré puis séché.

### 3-[(2-aminophenyl)amino]-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one 94a

T<sub>f</sub>: 163-165 °C.

I.R (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1334 (C-N), 1665 (C=O). 3322(NH)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 1,02 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>); 1,99 (s, 2H, NC-CH<sub>2</sub>); 2,37 (s, 2H, OC-CH<sub>2</sub>); 4,63 (s, 1H, =CH); 4,84 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 6,63-6,99 (m, 4H, Ar); 8,13 (s, 1H, NH).

**3-[(2-amino-5-methylphenyl)amino]-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one 94b**

**T<sub>f</sub>**: 182-184 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1241 (C-N), 1631 (C=O), 3196(NH)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 1,01 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>); 1,98 (s, 2H, NC-CH<sub>2</sub>); 2,35 (s, 2H, OC-CH<sub>2</sub>); 4,62 (s, 1H, =CH); 4,75 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 6,36-6,78 (m, 3H, Ar); 8,06 (s, 1H, NH)

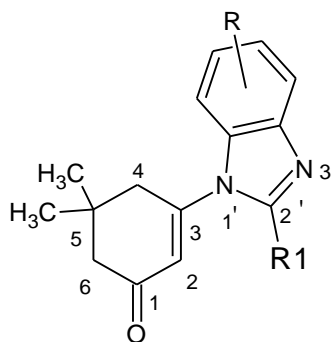
**3-[(2-amino-5-chlorophenyl)amino]-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one 94c**

**T<sub>f</sub>**: 188-190 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1352 (C-N), 1638 (C=O). 3304(NH)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 1,02 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>); 2,00 (s, 2H, NC-CH<sub>2</sub>); 2,36 (s, 2H, OC-CH<sub>2</sub>); 4,61 (s, 1H, =CH); 5,19 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 6,53-6,92 (m, 3H, Ar); 8,11 (s, 1H, NH).

## Procédé général d'obtention des composés de structure 95



### Méthode A : Chauffage classique

A (1mmol, 1eq) d'énaminone 94, dans 15 mL de dichloromethane anhydre, on ajoute (1mmol, 1eq) de N,N-dimethylformamide (acétamide)dimethylacétal et 0,1mL d'acide acétique glacial. L'ensemble est porté à reflux sous agitation entre 6 à 9 heures, l'avancement de la réaction est suivi par CCM (éluant AcOEt /MeOH, 98/2). Après évaporation à sec du mélange réactionnel, le résidu obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

### Méthode B : Irradiation par micro-ondes

Un tube pyrex contenant (1mmol, 1éq) d'énaminone 94, (1.1mol, 1.1éq) de DMF(DMA)-DMA et 0,1mL d'acide acétique glacial est introduit dans un four micro-ondes. On procède alors à des activations d'une minute à une puissance de 300W. Les réactions ont été suivies par CCM dans l'éluant AcOEt /MeOH dans un rapport 98/2 . Le brut réactionnel est lavé à l'éther puis purifié par recristallisation dans l'éthanol.

### **3-(1H-benzimidazol-1-yl)-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one 95a**

**T<sub>f</sub>**: 180-182 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1506 (C=N), 1646 (C=O).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,23(s, 6H); 2,43 (s, 2H); 2.87 (s, 2H); 6.43 (s, 1H); 7,37-7,85 (m, 4H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 28,2 (2CH<sub>3</sub> en C<sub>5</sub>); 33,6 (C<sub>5</sub>); 42,1 (C<sub>4</sub>); 50,4 (C<sub>6</sub>); 112,5 (C<sub>2</sub>); 116,0. 121,0. 123,9. 124,6. 131,8. 144,6 (C Ar); 140,3(C<sub>2'</sub>); 151,4 (C<sub>3</sub>); 198,3(C=O).

**SM** (ESI) m/z 241[M+H]<sup>+</sup>

**5, 5-dimethyl-3-(5-methyl-1H-benzimidazol-1-yl) cyclohex-2-en-1-one 95b**

**T<sub>f</sub>**: 196-198°C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1504(C=N), 1660(C=O)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,25(s, 6H); 2,44 (s, 2H); 2,51 (s, 3H); 2,87 (s, 2H); 6,44 (s, 1H); 7,23-7,87 (m, 3H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 21,3. 28,3 (2CH<sub>3</sub>en C<sub>5</sub>); 33,6 (C<sub>5</sub>); 42,1 (C<sub>4</sub>); 50,5 (C<sub>6</sub>), 112,2 (C<sub>2</sub>); 115,5. 121,0. 126,1. 130,0. 134,0. 145,1. (C Ar); 140,3(C<sub>2</sub>); 151,5(C<sub>3</sub>); 198,4(C=O).

**SM** (ESI) m/z 255.0 [M+H]<sup>+</sup>.

**3-(5-chloro-1H-benzimidazol-1-yl)-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one 95c**

**T<sub>f</sub>**: 210-212 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1507(C=N), 1646(C=O).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm):1,24 (s, 6H); 2,45 (s, 2H); 2,85 (s, 2H); 6,39 (s, 1H); 7,35-7,83 (m, 3H); 8,17 (s, 1H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 28,3 (2CH<sub>3</sub>en C<sub>5</sub>); 33,8 (C<sub>5</sub>); 42,3 (C<sub>4</sub>); 50,6 (C<sub>6</sub>); 113,1 (C<sub>2</sub>); 116,6. 121,1. 125,1. 129,7. 130,6. 145,7 (C Ar); 141,4 (C<sub>2</sub>); 151,0 (C<sub>3</sub>); 198,1(C=O).

**SM** (ESI) m/z 275.0 [M+H]<sup>+</sup>.

**5, 5-dimethyl-3(2-methyl-1H-benzimidazol-1-yl) cyclohex-2-en-1-one 95d**

**T<sub>f</sub>**: 188-190 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1534(C=N), 1635(C=O).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,25(s, 6H); 2,47 (s, 2H); 2,61 (s, 3H); 2,69 (s, 2H); 6,19 (s, 1H); 7,25-7,72 (m, 4H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,1 (CH3en C<sub>2'</sub>); 28,1 (2CH3en C<sub>5</sub>); 34,0 (C<sub>5</sub>); 43,4 (C<sub>4</sub>); 51,0 (C<sub>6</sub>); 110,2 (C<sub>2</sub>); 119,5. 123,0. 123,2. 125,6. 134,3. 143,0 (C Ar); 149,9 (C<sub>2'</sub>); 153,1 (C<sub>3</sub>); 198,3 (C=O).

**SM** (ESI) m/z 255,0. [M+H]<sup>+</sup>.

### **3-(2, 5-dimethyl-1H-benzimidazol-1-yl)-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one**

#### **95e**

**T<sub>f</sub>**: 190-192 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1530(C=N), 1667(C=O).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 1,24(s, 6H); 2,46 (s, 5H, CH<sub>3</sub>+CH<sub>2</sub>); 2,59 (s, 3H); 2,68 (s, 2H); 6,16 (s, 1H); 7,07-7,48 (m, 3H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,1 (CH3en C<sub>2'</sub>); 21,4 (CH3 Ar); 28,0 (2CH3en C<sub>5</sub>); 34,0 (C<sub>5</sub>); 43,3 (C<sub>4</sub>); 50,9 (C<sub>6</sub>); 109,8 (C<sub>2</sub>); 119,3. 124,5. 125,1.127,9. 132,8. 143,2 (C Ar); 149,9 (C<sub>2'</sub>); 153,2 (C<sub>3</sub>); 198,4 (C=O).

**SM** (ESI) m/z 269,0 [M+H]<sup>+</sup>.

### **3-(5-chloro-2-methyl-1H-benzimidazol-1-yl)-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-**

#### **one 95f**

**T<sub>f</sub>**: 220-222 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1525(C=N), 1673(C=O).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 1,25(s, 6H); 2,48 (s, 2H); 2,61 (s, 3H); 2,66 (s, 2H); 6,18 (s, 1H); 7,18-7,69 (m, 3H).

**RMN <sup>13</sup>C** (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,2 (CH3en C<sub>2'</sub>); 28,1 (2CH3en C<sub>5</sub>); 34,1 (C<sub>5</sub>); 43,5 (C<sub>4</sub>); 51,02 (C<sub>6</sub>); 110,1 (C<sub>2</sub>); 119,5. 123,6. 126,0. 128,7. 133,2. 143,98 (C Ar); 151,3 (C<sub>2'</sub>); 152,6 (C<sub>3</sub>); 198,2 (C=O).

**SM**(ESI) m/z 289,0 [M+H]<sup>+</sup>.

## Références bibliographiques

[1]- B. N. Kolli, M. Hamdi, J. Pecher, Synth. Comm, 20, 1579, **1990**.

**Chapitre III**  
**Réactivité des  $\beta$ -pyrazoloénaminones :**  
**Synthèse des structures**  
**Pyrazolopyranopyrrole -1,6-dione**

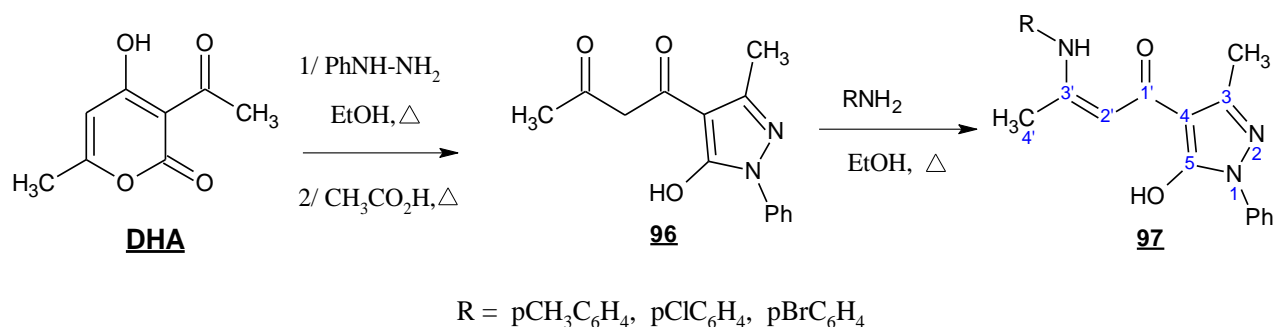
### III.1- Introduction

Les résultats obtenus lors du précédent chapitre ont montré que les  $\beta$ -énaminones sont des synthons intéressants qui offrent une large palette de transformations possibles. En effet elles ont permis l'accès aux dérivés benzimidazoles **95**. Dans la continuité de ce travail nous avons envisagé d'étendre le champ d'application des énaminones aux  $\beta$ -pyrazoloénaminones **97** issues de l'acide déhydroacétique (DHA) afin d'accéder à d'autres cibles moléculaires d'une complexité structurale plus élevée.

Comme nous l'avons précisé dans la partie bibliographique, les noyaux pyrazol, 2-pyrone et pyrrolidine possèdent des propriétés pharmacologiques diverses. Dans ce contexte, nous avons voulu synthétiser au départ des intermédiaires **97** de nouvelles molécules associant ces trois motifs de structure pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione **98** présentant de potentielles activités biologiques.

### III.2- Synthèse des précurseurs $\beta$ -pyrazoloénaminones **97**

La méthodologie adoptée pour accéder aux composés **98** s'articule autour du schéma réactionnel III.1. Elle consiste dans un premier temps à préparer à partir de l'acide déhydroacétique, par ouverture du cycle pyronique, la 1,3-dicétone pyrazolée **96**. Cette synthèse a été réalisée en deux étapes selon le procédé précédemment décrit par Gelin [1].



**Schéma III.1** : Synthèse des composés **97** à partir du DHA

Les  $\beta$ -pyrazoloénaminones **97** précurseurs des structures **98** ont été ensuite préparées selon une approche décrite dans la littérature [2]. Celle-ci consiste à faire réagir au reflux de l'éthanol 5 mmol de  $\beta$ -dicétone **96** et 5 mmol de monoamines primaires aromatiques (suivi de la réaction par CCM). Le précipité formé est filtré, puis lavé plusieurs fois avec du méthanol chaud pour donner les synthons **97** sous forme d'une poudre jaune-orange. La

recristallisation de ces derniers n'a pas été nécessaire. Le tableau III.1 regroupe les caractéristiques physiques des dérivés **97**.

**Tableau III.1 : Caractéristiques physiques des précurseurs **97**.**

Composé	R	Rdt (%)	T <sub>f</sub> (°C)
<b>97a</b>	p-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	75	164-166
<b>97b</b>	p-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	68	158-160
<b>97c</b>	p-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	65	148-150

### III.3- Caractérisation spectrale des précurseurs **97**

#### III.3.1- Spectroscopie RMN

##### III.3.1.1- RMN du proton

Pour les trois intermédiaires **97a**, **97b** et **97c**, les spectres RMN<sup>1</sup>H (tableau III.2) réalisés dans le CDCl<sub>3</sub> à 300MHz montrent les signaux caractéristiques des protons du groupement R introduit via l'énamination de la dicétone **96**. Les autres signaux correspondent à ceux attendus pour ces derniers. Nous avons choisi à titre d'exemple de reporter sur le schéma III.2 les déplacements chimiques du dérivé **97a** sur lequel on observe la présence d'un nouveau signal sous forme d'un singulet à 2,37 ppm attribuable aux trois protons du groupement méthyle se trouvant sur le phényle.

**Tableau III.2 : Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H des dérivés **97**.**

composés	R	δ (ppm) (300MHz, CDCl <sub>3</sub> )
<b>97a</b>	p-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2,11 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 2,37 (s, 3H, Ar-CH <sub>3</sub> ) 2,48 (s, 3H, N-N=CCH <sub>3</sub> ); 5,35 (s, 1H, C=CH), 7,04-7,89 (m, 10H, 2ar, NH); 11,87 (s, 1H, OH).
<b>97b</b>	p-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2,12 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 2,48 (s, 3H, N-N=CCH <sub>3</sub> ), 5,39 (s, 1H, C=CH); 7,09-7,88 (m, 10H, 2Ar, NH); 12,00 (s, 1H, OH)
<b>97c</b>	p-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2,10 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 2,47 (s, 3H, N-N=CCH <sub>3</sub> ); 5,38 (s, 1H, C=CH); 7,01-7,88 (m, 10H, 2Ar, NH); 12,00 (s, 1H, OH).

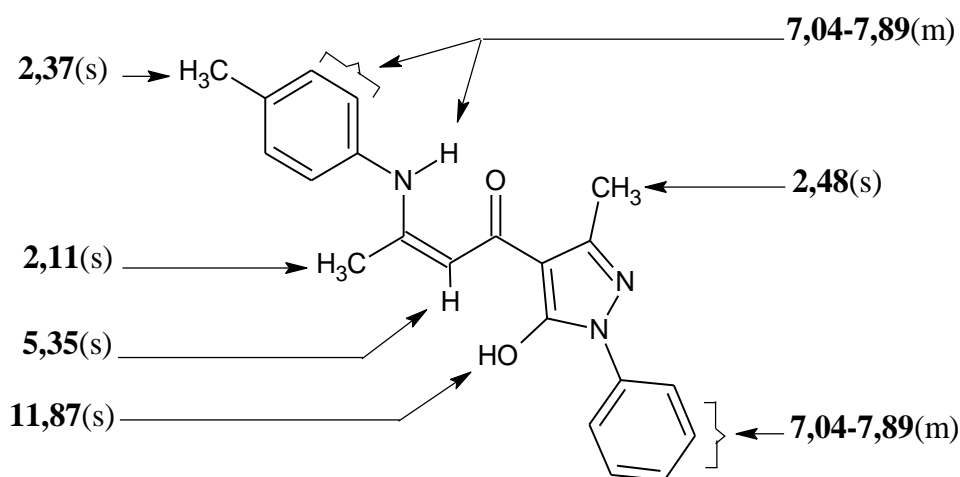


Schéma III.2 : Caractéristiques spectrales RMN<sup>1</sup>H ( $\delta$  (ppm)) du dérivé **97a**.

### III.3.1.2- RMN du carbone <sup>13</sup>C

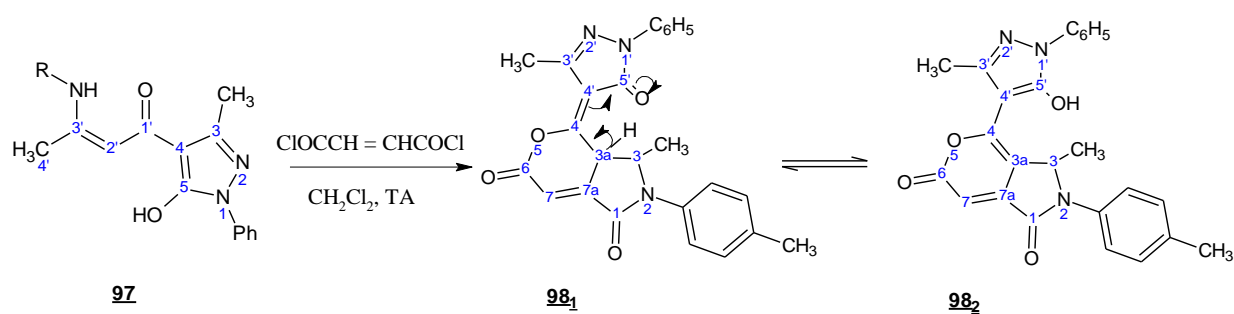
L'étude des spectres RMN <sup>13</sup>C des dérivés **97a**, **97b** et **97c**, enregistrés dans le CDCl<sub>3</sub> à 100.6 MHz ont permis de relever, en plus des déplacements chimiques  $\delta$  (ppm) des signaux attendus, de nouveaux signaux correspondants aux carbones du groupement R (p-méthylphényl, p-chlorolphényl, p-bromophényl) inséré. Les attributions détaillées des signaux sont rassemblées sur le tableau III.3.

Tableau III.3 : Caractéristiques spectrales RMN <sup>13</sup>C ( $\delta$  ppm) des précurseurs **97**.

Comp.	CH <sub>3</sub>	C' <sub>4</sub>	ar-CH <sub>3</sub>	C' <sub>2</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>ar</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>3'</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>1=O</sub>
<b>97a</b>	15,9	20,7	20,9	93,4	100,5	120,4-138,0	146,4	160,6	162,4	183,8
<b>97b</b>	15,9	20,7	-	94,5	100,8	120,5-137,8	146,4	160,0	161,3	184,6
<b>97c</b>	15,9	20,7	-	94,6	100,8	119,2-137,8	146,3	160,0	161,1	184,5

### III.4-Synthèse des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones **98**

Les  $\beta$ -pyrazoloénaminones **97** précédemment obtenues comportant un système  $\alpha,\beta$ -insaturé de type  $-N-C=C-C=O$ , entité requise pour la réaction envisagée, ont été dissoutes dans du dichlorométhane et engagées à 0°C dans une cyclisation en présence d'un agent biélectrophile judicieusement choisi le chlorure de fumaryle ( ClCO-CH=CH-COCl) (Schéma III.3).



**Schéma III.3 : Synthèse des composés 98**

Ces conditions ont permis d'isoler en une seule étape avec des rendements compris entre 64 et 69 % des structures inédites de type pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione 98 dont les données physico-chimiques sont consignées dans le tableau III.4.

**Tableau III.4 : Propriétés physico-chimiques des dérivés 98**

Composés		<u>98a</u>	<u>98b</u>	<u>98c</u>
R		p-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	p-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	p-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>
Rdt. %		64	69	67
Temps(h)		12	15	12
T <sub>f</sub> (°C)		222-224	220-222	195- 197
Couleur		Jaune	bleu- foncé	marron
I.R(KBr)	ν C=O Pyrazole	1636	1627	1636
	ν C=O Lactone	1659	1678	1673
	ν C=O Pyrolidinone	1729	1711	1720

### III.5- Caractérisation spectrale des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones **98**

Le composé **98a** a été totalement caractérisé par IR, RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ), spectrométrie de masse et diffraction des rayons X. Tandis que les dérivés **98b** et **98c** ont été identifiés par IR et RMN  $^1\text{H}$ .

#### III.5.1- Spectroscopie IR

Les spectres infrarouges des composés **98a**, **98b** et **98c** présentent trois bandes de vibration à  $1626\text{-}1636\text{ cm}^{-1}$ , à  $1659\text{-}1678\text{ cm}^{-1}$  et à  $1711\text{-}1729\text{ cm}^{-1}$  correspondant respectivement aux carbonyles (C=O) de la pyrazolone, de la lactone et celui de la pyrrolidinone appuyant ainsi la forme cétonique **98<sub>1</sub>**.

#### III.5.2- Spectroscopie RMN

##### III.5.2.1- RMN du proton

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones **98** ont été enregistrés à 300 MHz dans le DMSO- $d_6$ . Les attributions des signaux sont reportées sur le tableau III.5 et sont en accord avec la structure proposée.

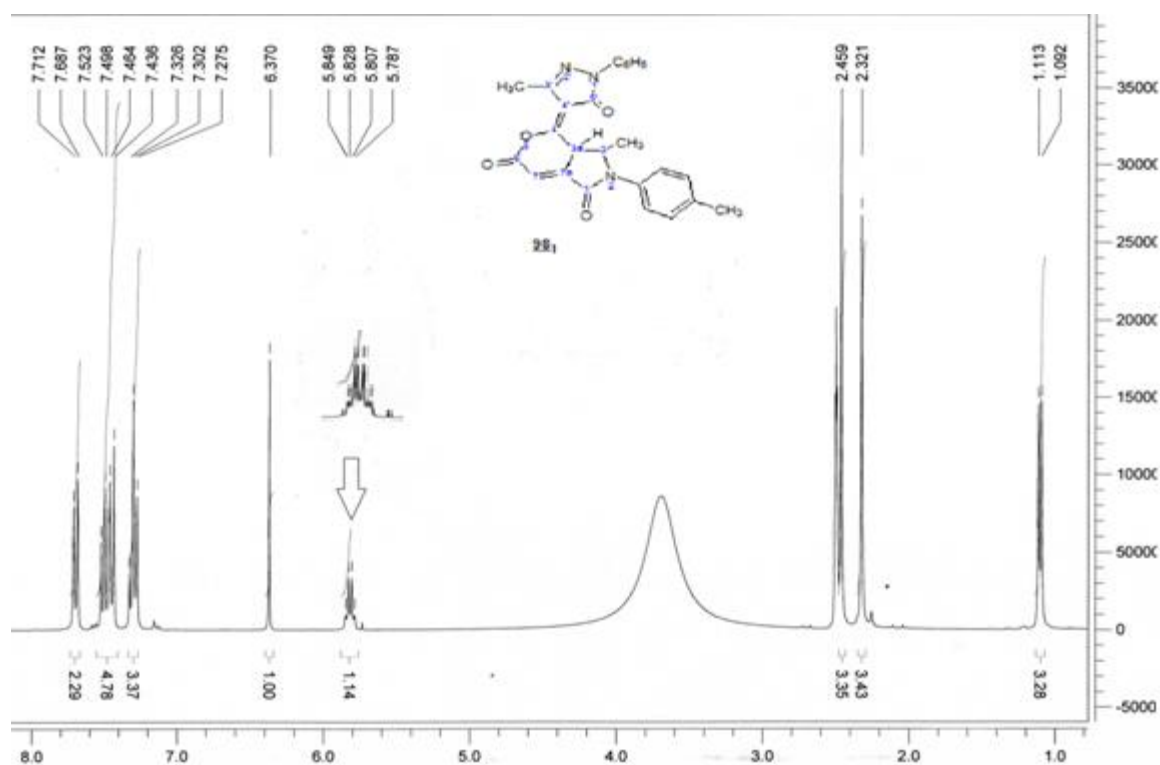
Tableau III.5 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$  (ppm), J (Hz)) des pyrazolopyranopyrrole-1,6-diones **98**

composés	R	$\delta$ (ppm), J (Hz) (300 MHz, DMSO- $d_6$ )
<b>98a</b>	p- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$	1,10 (d, 3H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-CH}_3$ ); 2,32 (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ); 2,46 (s, 3H, $\text{C}'\text{-CH}_3$ ); 5,80 (q, 1H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-H}$ ); 6,37 (s, 1H, $\text{C}_7\text{-H}$ ); 7,27-7,71 (m, 10H, 2Ar, $\text{C}_{\text{a}3}\text{-H}$ )
<b>98b</b>	p- $\text{ClC}_6\text{H}_4$	1,13 (d, 3H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-CH}_3$ ); 2,47 (s, 3H, $\text{C}'\text{-CH}_3$ ); 5,89 (q, 1H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-H}$ ); 6,39 (s, 1H, $\text{C}_7\text{-H}$ ); 7,27-7,73 (m, 11H, 2Ar, $\text{C}_{\text{a}3}\text{-H}$ )
<b>98c</b>	p- $\text{BrC}_6\text{H}_4$	1,13 (d, 3H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-CH}_3$ ); 2,48 (s, 3H, $\text{C}'\text{-CH}_3$ ); 5,88 (q, 1H, J= 6,2HZ, $\text{C}_3\text{-H}$ ); 6,40 (s, 1H, $\text{C}_7\text{-H}$ ); 7,28-7,73 (m, 11H, 2Ar, $\text{C}_{\text{a}3}\text{-H}$ )

Le composé **98** est susceptible d'exister sous des formes tautomères parmi les quelles les deux formes cétonique **98<sub>1</sub>** et énolique **98<sub>2</sub>** du schéma III.3. Cependant, selon l'analyse structurale, seule la forme cétonique **98<sub>1</sub>** est présente. En effet l'examen des spectres RMN  $^1\text{H}$  montre la disparition des signaux relatifs au proton éthylénique  $=\text{C}_2\text{-H}$  et à l'hydroxyle  $\text{C}_5\text{-OH}$  habituellement observés dans les précurseurs **97** à 5,40 ppm et 12 ppm

respectivement. Cette observation confirme la participation de ces fonctions dans la réaction d'hétérocyclisation. On note également l'apparition des nouveaux pics:

- ❖ Un doublet centré à 1,12 ppm, intégrant pour trois protons ( $J= 6,2$  Hz) correspondant au méthyle porté par le carbone  $C_3$  du cycle pyrrole.
- ❖ un signal sous forme d'un quadruplet centré à 5,86 ppm ( $J= 6,2$  Hz), caractéristique du proton lié au carbone  $C_3$  confirmant ainsi le non couplage de ce dernier avec le proton vicinal en  $C_{3a}$  (Figure III.1)
- ❖ Un signal sous forme d'un multiplet à 7,27-7,7 ppm, intégrant pour dix protons, attribuable aux neuf protons aromatiques et à celui porté par le carbone  $C_{3a}$  -H.



**Figure III.1:** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du dérivé **98a**

La grande mobilité du proton  $H_{43}$  lié au carbone  $C_{3a}$  est due à sa position en  $\alpha$  de deux systèmes  $\alpha,\beta$ - insaturés (Schéma III.4) d'où le déblindage du signal de ce proton (7,27 -7,7 ppm) vers le domaine des protons aromatiques.

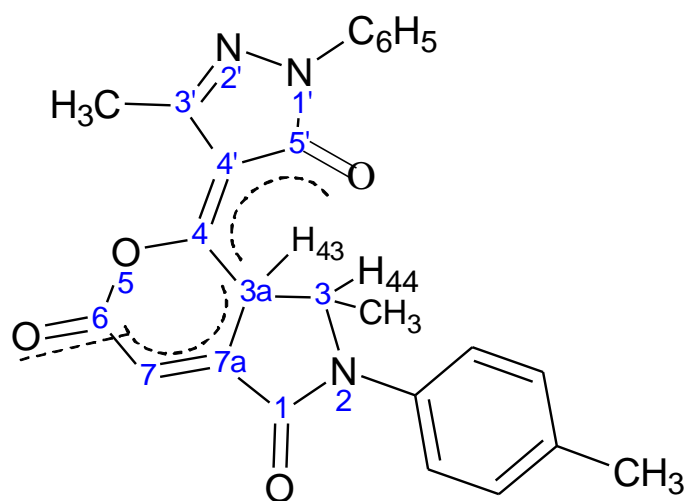
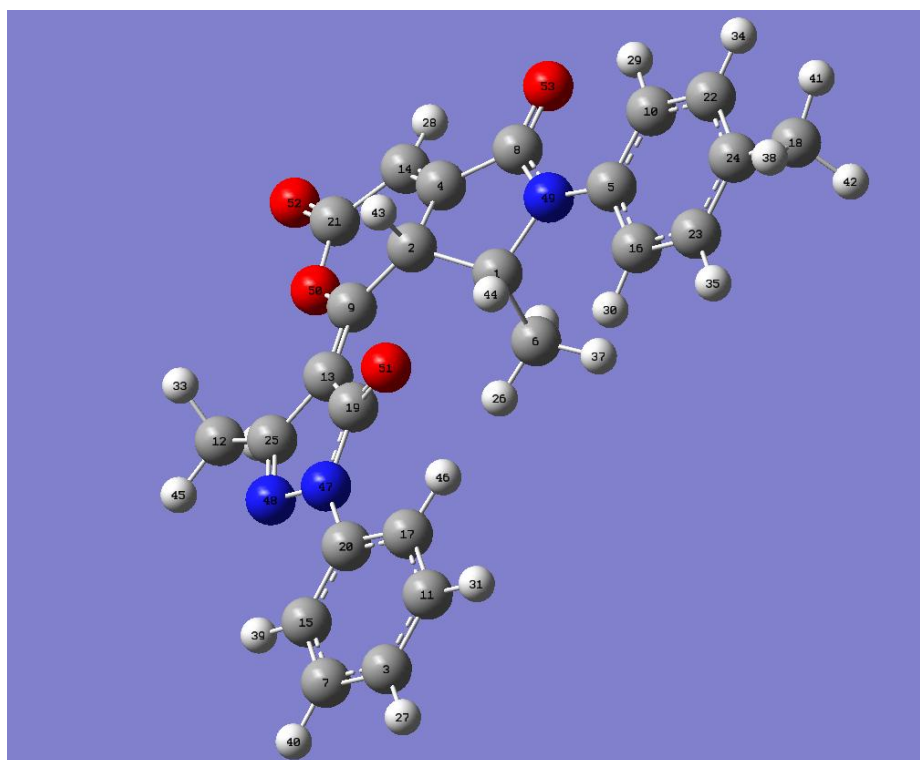
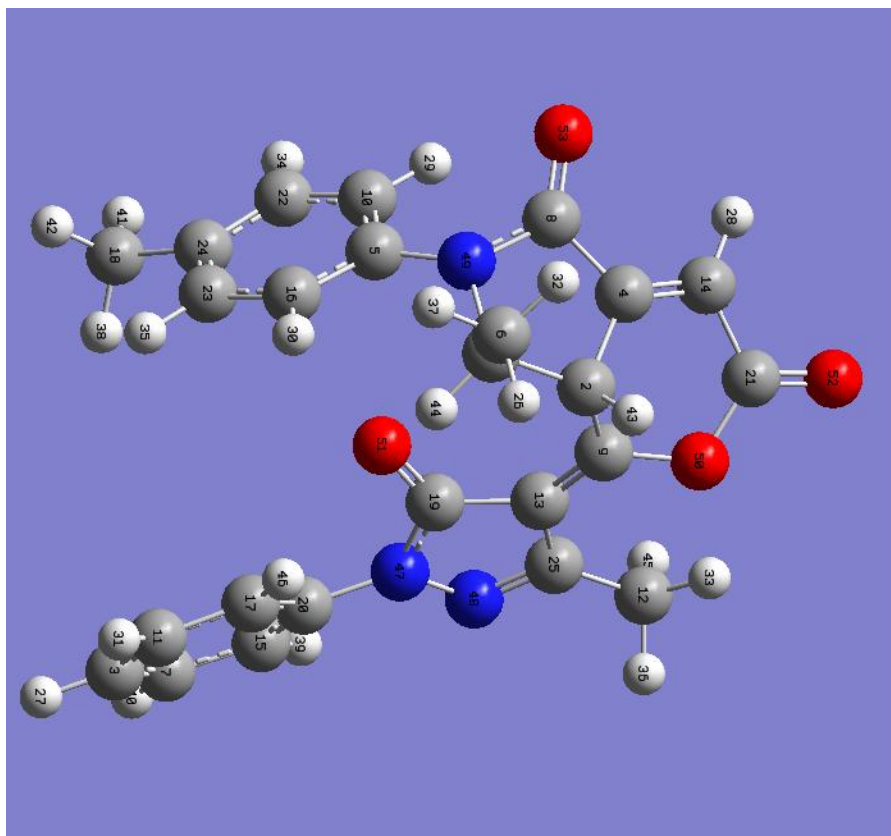


Schéma III.4

En se conformant à la figure III.2, l'absence de couplage ( $J_{\text{moyen}} \approx 0$ ) du proton  $H_{43}$  avec le proton voisin  $H_{44}$  peut s'interpréter sur la base, d'une part, de la mobilité du proton  $H_{43}$  et d'autre part, de la stéréochimie du composé **98a** qui privilégie la configuration **98a cis** ( $H_{43}$  et  $H_{44}$  sont en position cis sur le cycle pyrrolidinone) par rapport à la configuration **98a trans**, stériquement moins privilégiée, pour laquelle la valeur de la constante de couplage devrait être généralement plus élevée que celle de la configuration **98a cis**.



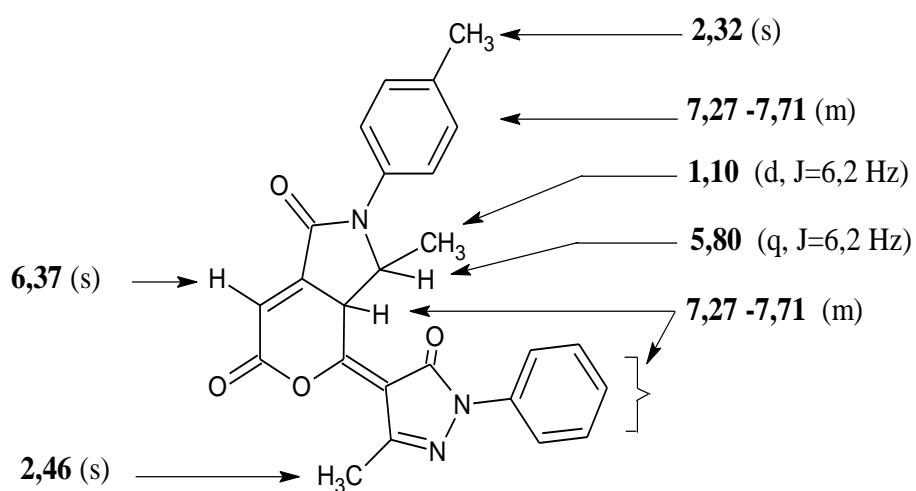
**98a cis**



**98a trans**

**Figure III.2:** Configuration spatiales du dérivé **98a**.

Nous reportons à titre d'exemple sur le schéma III.5 les déplacements chimiques RMN<sup>1</sup>H ( $\delta$  (ppm), J (Hz)) du dérivé **98a**.



**Schéma III.5 :** Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H du dérivé **98a**.

### III.5.2.2- RMN du carbone 13

Dans des conditions similaires, le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  réalisé à (75 MHz, DMSO- $d_6$ ), est en faveur de la structure **98**.

L'étude des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  a permis de confirmer l'hétérocyclisation des précurseurs **97** impliquant leurs trois sites nucléophiles ( $\text{N}-\text{C}=\underline{\text{C}}-\text{C}=\underline{\text{O}}$ ). Cette observation est confortée par l'apparition pour le composé **98a** de nouveaux signaux à :

- ❖ 161,5 ; 161,8 et 162 ppm caractéristiques des carbones  $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_5$  et  $\text{C}_6$  des trois carbonyles des cycles pyrrolidinone, pyrazolone et lactone respectivement.
- ❖ 13,2 ; 55,4 et 96,6 ppm attribuables aux carbones du méthyle  $\text{C}_3-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ,  $\underline{\text{C}}_3$ , et  $\underline{\text{C}}_7\text{-H}$  respectivement.

D'autre part la comparaison du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du produit de départ **97** avec le composé d'arrivé **98** révèle l'absence sur ce dernier du signal correspondant au carbone du carbonyle  $\text{C}_1=\text{O}$  à 182-185 ppm confirmant ainsi son engagement dans la réaction de cyclisation. Le Schéma III.6 illustre les caractéristiques spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$  (ppm)) du dérivé **98a**.

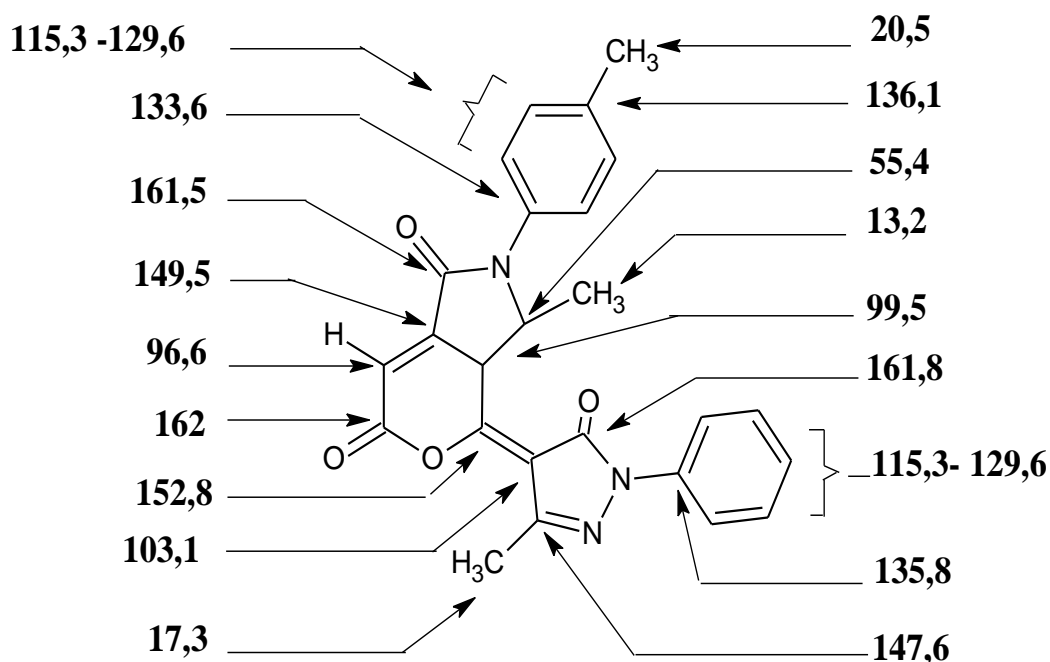


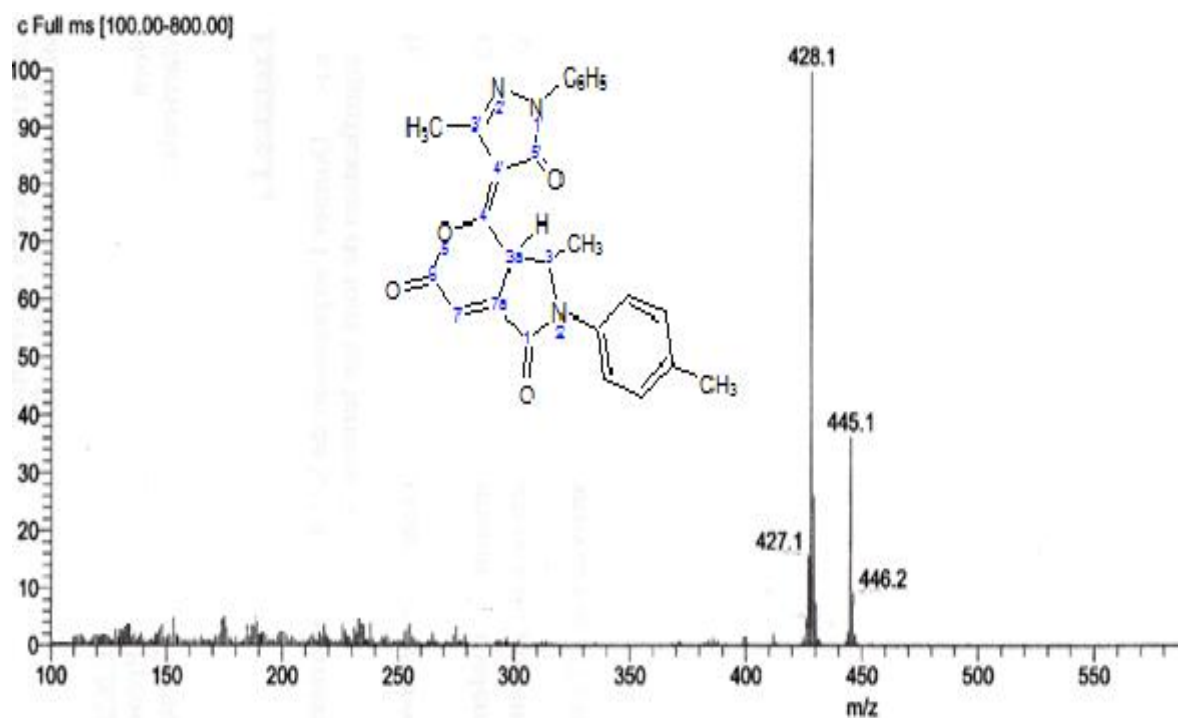
Schéma III.6 : Déplacements chimiques du dérivé **98a** en RMN  $^{13}\text{C}$

### III.5.3 - Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du dérivé **98a** (Figure III.3) obtenu par ionisation chimique ( $\text{NH}_3$ ) présente un pic très intense spécifique de l'ion quasimoléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z = 428$  (100%) et le pic à  $m/z = 445$  (35%) correspondant à l'ion  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ . Les résultats sont présentés sur le tableau III.6.

**Tableau III.6:** Spectrométrie de masse de **98a** par ionisation chimique ( $\text{NH}_3$ ).

composé	Masse moléculaire	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$[\text{M} + \text{NH}_4]^+$
<b>98a</b> (m/z)	427	428	445



**Figure III.3:** Spectre de masse en ionisation chimique du dérivé **98a**.

### III.5.4- Etude radiocristallographique

En vu d'appuyer davantage la structure des produits **98** synthétisés, nous avons fait appel à la diffraction aux R.X après avoir obtenu un monocristal (recristallisation par évaporation lente dans l'éthanol absolu) du dérivé **98a**. L'ORTEP de ce dernier (Figure III.4) confirme effectivement la structure pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione qui cristallise avec deux molécules d'eau et montre également la stéréochimie privilégiée de cette structure.

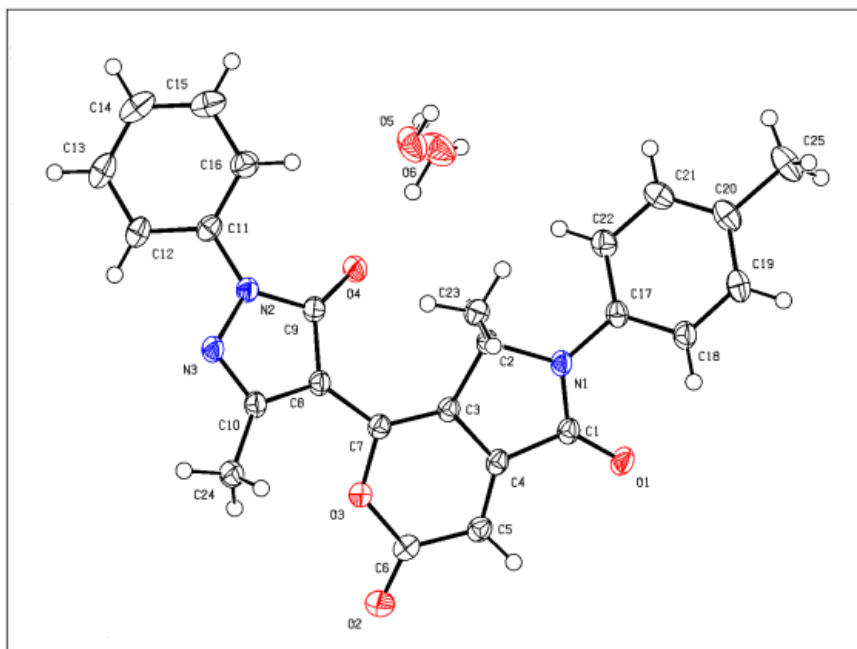


Figure III.4: Diagramme ORTEP de la pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione **98a**

Tableau III.7 Données cristallographiques de **98a**.

Formule chimique	$C_{25} H_{20} N_3 O_4, 2(H_2 O)$	
Masse molaire	462.47	
Température	150 K	
Système cristallin	Triclinique	
Groupe d'espace	$P 1^-$	
Dimensions de la maille	$a=10.3178(18) \text{ \AA}$ $b=10.7096(18) \text{ \AA}$ $c=11.6450(2) \text{ \AA}$	$\alpha = 63.929(8)^\circ$ $\beta = 76.778(8)^\circ$ $\gamma = 82.069(8)^\circ$
Volume	$1124.2(3) \text{ \AA}^3$	
Z	2	
Radiation $K\alpha$ Mo,	$\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$	

### III.6- Proposition du mécanisme réactionnel

Sur la base des données structurales déterminées ci-dessus, le mécanisme réactionnel de formation des produits **98** peut être interprété comme suit (Schéma III.7) :

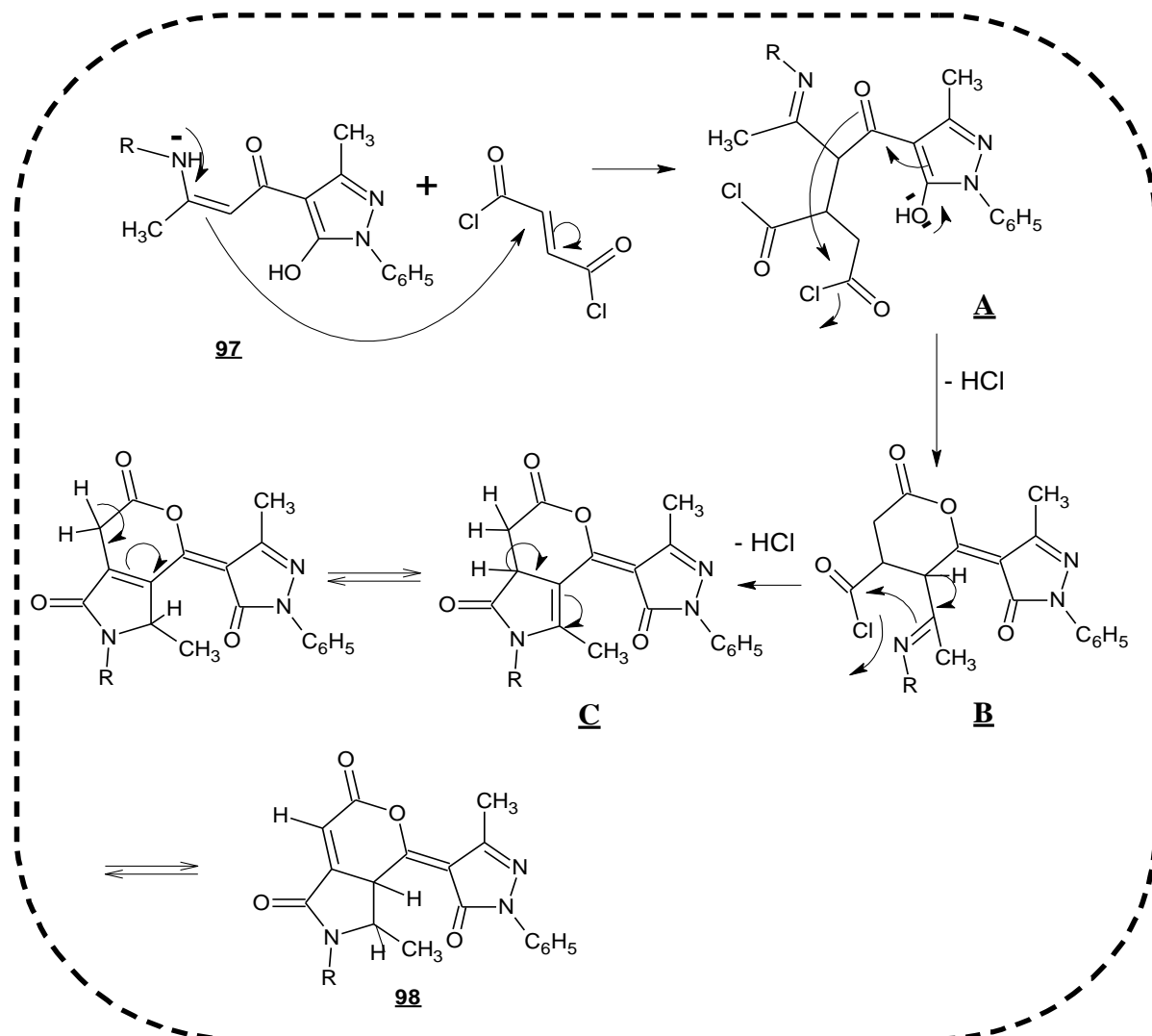


Schéma III.7 : Mécanisme de formation de la pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione **98**

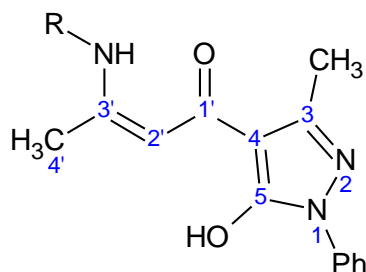
La première étape du mécanisme correspond à la formation de l'intermédiaire dichlorure **A** par l'attaque nucléophile du fragment énamine sur le carbone éthylénique du chlorure de fumaryle. L'intermédiaire pyrazolopyranone **B** est formé après l'attaque de l'oxygène en C<sub>1</sub> sur le carbone électrophile du groupement Cl-C=O et l'élimination d'une molécule d'HCl. L'attaque de l'azote de l'imine de **B** sur l'autre carbonyle permet après perte d'une deuxième molécule d'HCl, d'obtenir l'intermédiaire **C** qui se réarrange par tautomérie pour donner la structure pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione **98** ciblée.

## Conclusion

Nous avons développé une voie d'accès originale et efficace à une série de composés inédits de type Pyrazolopyranopyrrole-1,6-dione **98** avec de bons rendements. Cette nouvelle stratégie de synthèse, facile à mettre en œuvre, utilise des réactifs simples et peu coûteux. Elle consiste à soumettre les  $\beta$ -pyrazoloénaminones **97**, précurseurs clés aisément accessibles au départ de l'acide déhydroacétique, à l'action d'un agent biélectrophile, le chlorure de fumaryle. Au cours de cette synthèse, nous avons observé un aspect inattendu sur la réactivité des énamines **97** vis-à-vis de ce réactif biélectrophile, à savoir l'implication des trois sites nucléophiles de **97** dans la formation des structures **98**.

## Partie expérimentale

### Procédé général d'obtention des composés de structure 97



Nous avons introduit un équivalent de DHA (10mmol, 1.681g) avec un équivalent de phénylhydrazine (10mmol, 0.985ml) dans 150 ml d'éthanol. La réaction a été suivie par CCM avec l'éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH dans un rapport de 94/6. Après cinq heures de reflux, La CCM montre une seule tache. Après refroidissement Le précipité formé est récupéré par filtration sous la forme d'une poudre jaune, qui est rincée avec de l'acétonitrile donnant accès aux hydrazone.

En portant 9g d'hydrazone au reflux de l'acide acétique (60ml) pendant 2 heures on obtient la 4-acétoacétyl-3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one avec un rendement de 91%. La réaction a été suivie par CCM (éluant éther de pétrole/acétate d'éthyle avec un rapport 10/90), La β-dicétoone formée est séparée en versant la solution obtenue sur de la glace. Le précipité formé est récupéré par filtration, rincé avec de l'eau jusqu'à l'obtention d'un PH neutre ( le contrôle du PH a été réalisé avec du papier PH) . La recristallisation de ce dernier est réalisée dans l'acétonitrile.

A une solution de β-dicétoone (1eq, 5mmol) dans l'éthanol (10ml) est ajoutée l'amine primaire (1eq, 5mmol) sous agitation magnétique. Le milieu réactionnel est porté au reflux pendant deux heures. La fin de la réaction est déterminée par CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH dans un rapport de 99/1).Le précipité formé est filtré, puis lavé plusieurs fois avec du méthanol tiède pour donner Les pyrazolénaminones 97 sous forme d'une poudre jaune-orange.

**1-(5-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3-[(4-methylphenyl)amino]but-2-en-1-one 97a**

**Rdt:** 75%. **T<sub>f</sub>:** 164-166 °C.

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,37 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>)  
2,48 (s, 3H, N-N=CCH<sub>3</sub>); 5,35 (s, 1H, C=CH), 7,04-7,89 (m, 10H, 2ar, NH); 11,87 (s, 1H, OH).

**RMN <sup>13</sup>C** (100.6 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,9 (CH<sub>3</sub>); 20,7 (C<sub>4'</sub>); 20,9 (CH<sub>3</sub> Ar); 93,4 (C<sub>2</sub>);  
100,5 (C<sub>4</sub>); 120,4-138,0 (C<sub>ar</sub>); 146,4 (C<sub>3</sub>); 160,6 (C<sub>3'</sub>), 162,4 (C<sub>5</sub>), 183,8 (C<sub>1</sub>=O).

**3-[(4-chlorophenyl)amino]-1-(5-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)but-2-en-1-one 97b**

**Rdt:** 68%. **T<sub>f</sub>:** 158-160 °C.

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,48 (s, 3H, N-N=CCH<sub>3</sub>),  
5,39 (s, 1H, C=CH); 7,09-7,88 (m, 10H, 2Ar, NH); 12,00 (s, 1H, OH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100.6 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,9 (CH<sub>3</sub>); 20,7 (C<sub>4'</sub>); 94,5 (C<sub>2</sub>); 100,8 (C<sub>4</sub>); 120,5-  
137,8 (C<sub>ar</sub>); 146,4 (C<sub>3</sub>); 160,0 (C<sub>3'</sub>), 161,3 (C<sub>5</sub>), 184,6 (C<sub>1</sub>=O).

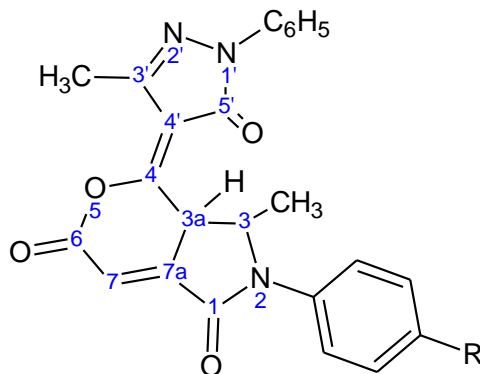
**3-[(4-bromophenyl)amino]-1-(5-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)but-2-en-1-one 97c**

**Rdt:** 65%. **T<sub>f</sub>:** 148-150 °C.

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 2,10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,47 (s, 3H, N-N=CCH<sub>3</sub>);  
5,38 (s, 1H, C=CH); 7,01-7,88 (m, 10H, 2Ar, NH); 12,00 (s, 1H, OH).

**RMN <sup>13</sup>C** (100.6 MHz CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 15,9 (CH<sub>3</sub>); 20,7 (C<sub>4'</sub>); 94,6 (C<sub>2</sub>); 100,8 (C<sub>4</sub>); 119,2-  
137,8 (C<sub>ar</sub>); 146,3 (C<sub>3</sub>); 160,0 (C<sub>3'</sub>), 161,1 (C<sub>5</sub>), 184,5 (C<sub>1</sub>=O).

## Procédé général d'obtention des composés de structure 98



A (1mmol, 1eq) d'énaminopyrazole 97 dissous dans 20 mL de dichlorométhane anhydre, on additionne goutte à goutte (30 min) à 0°C sous agitation magnétique (1.1mmol, 1.1eq) de chlorure de fumaryle solubilisé dans 5mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le mélange revenu à température ambiante est laissé sous agitation pendant 12 à 15 heures (suivi de la réaction par CCM dans l'éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> /MeOH, 98/2). Le précipité obtenu est filtré, lavé avec de l'acétate d'éthyle (3x 10mL) puis recristallisé dans l'éthanol pour donner des cristaux jaunes-oranges.

### 4-(3-méthyl-5-oxo-1-phenyl-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidene)-2-(4-méthylphenyl)-2,3,3a,4-tetrahydropyrano[3,4-c]pyrrole-1,6-dione: 98a

**Rdt:** 64%. **T<sub>f</sub>:** 222-224 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1636(C=O Pyrazole), (1659(C=O Lactone), 1727(C=O Pyrrolidinone).

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,10 (d, 3H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 2,32 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>); 2,46 (s, 3H, C'-CH<sub>3</sub>); 5,80 (q, 1H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-H); 6,37 (s, 1H, C<sub>7</sub>-H); 7,27-7,71 (m, 10H, 2Ar, C<sub>a3</sub>-H).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) 13,2 (C<sub>3</sub>); 17,3 (C<sub>3</sub>); 20,5 (C<sub>3</sub> Ar); 55,4 (C<sub>3</sub>); 96,6 (C<sub>7</sub>); 99,5 (C<sub>3a</sub>); 103,1 (C<sub>4'</sub>); 115,3. 120,8. 123,5. 126,1. 129,6. 133,6. 135,8 (C Ar), 136,1 (CCH<sub>3</sub> Ar), 147,6 (C<sub>3'</sub>), 149,5 (C<sub>7a</sub>), 152,8 (C<sub>4</sub>), 161,5 (C<sub>1</sub>=O), 161,8 (C<sub>5</sub>'=O), 162 (C<sub>6</sub>=O).

**SM** (IC/ NH<sub>3</sub>) m/z 428 [M+H]<sup>+</sup>, 445 [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**2-(4-chlorophenyl)-4-(3-methyl-5-oxo-1-phenyl-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidene)-2,3,3a,4-tetrahydropyrano[3,4-c]pyrrole-1,6-dione: 98b**

**Rdt:** 69%. **T<sub>f</sub>:** 220-222 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1627(C=O Pyrazole), 1678(C=O Lactone), (1711(C=O Pyrolidinone)).

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,13 (d, 3H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 2,47 (s, 3H, C'-CH<sub>3</sub>); 5,89 (q, 1H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-H); 6,39 (s, 1H, C<sub>7</sub>-H); 7,27-7,73 (m, 11H, 2Ar, C<sub>a3</sub>-H).

**2-(4-bromophenyl)-4-(3-methyl-5-oxo-1-phenyl-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidene)-2,3,3a,4-tetrahydropyrano[3,4-c]pyrrole-1,6-dione: 98c**

**Rdt:** 67%. **T<sub>f</sub>:** 195-197 °C.

**I.R** (KBr,  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)): 1636 (C=O Pyrazole), 1673(C=O Lactone), 1720(C=O Pyrolidinone).

**RMN <sup>1</sup>H:** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) 1,13 (d, 3H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 2,48 (s, 3H, C'-CH<sub>3</sub>); 5,88 (q, 1H, J= 6,2HZ, C<sub>3</sub>-H); 6,40 (s, 1H, C<sub>7</sub>-H); 7,28-7,73 (m, 11H, 2Ar, C<sub>a3</sub>H).

## Références bibliographiques

[1]- S. Gelin, B. Chantegrel, A.I. Nadi, *Org. Chem.* 48, 4078, **1983**.

[2]- A. Bendaas, M. Hamdi, N. Sellier, *Heterocyclic. chem.* 36, 1291, **1999**.

**Chapitre IV:**  
**Evaluation in vitro de l'activité  
antimicrobienne des composés  
synthétisés**

## IV.1. Introduction

De tout temps on a utilisé des microorganismes (bactéries, levures et moisissures) pour fabriquer des produits comme le pain, la bière, le fromage. Malgré ce côté très bénéfique des microorganismes, certains d'entre eux causent des problèmes majeurs pour l'humanité. Il s'agit de bactéries, de levures unicellulaires et de champignons pathogènes pour l'homme.

La découverte des antibiotiques à la fin des années 1940 a marqué une étape capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses. Ces traitements ont permis d'épargner un grand nombre de vies.

A l'heure actuelle, l'apparition de maladies nouvelles et la résistante massive développée par certains microorganismes pathogènes vis-à-vis des molécules antibactériennes et antifongiques mises sur le marché, pose de très sérieux problèmes de santé publique.

Face à ce problème, le développement de méthodologies de synthèse pour la préparation de nouveaux agents bioactifs constituent un objectif majeur et une préoccupation permanente pour de nombreux chercheurs.

A travers l'étude bibliographique, de nombreuses propriétés biologiques ont été relevées pour les systèmes énaminones et les structures qui présentent le noyau benzimidazole, pyrrolidine pyrazole ou lactone. Ceci nous a incités à synthétiser des structures analogues et à évaluer les propriétés antimicrobiennes des composés obtenus sur différentes souches.

Les tests microbiologiques ont été réalisés avec la collaboration de madame Samira Merabtène à l'Institut Pasteur d'Algérie dans le service des milieux de culture.

## IV.2- Souches microbiennes étudiées

Notre choix s'est porté sur trois souches bactériennes (*Staphylococcus-aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) et deux champignons (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*) que nous décrivons ci-dessous:

### **IV.2.1- Bactéries à Gram négatif**

*Escherichia coli* : est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'être humain, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes. *E. coli* est un bacille gram négatif de la famille des entérobactéries.

*Klebsiella pneumoniae* : les *Klebsielles* sont des bacilles immobiles, souvent capsulés. Elles sont présentes dans le tube digestif et l'appareil respiratoire.

### **IV.2.2- Bactéries à Gram positif**

*Staphylococcus aureus* : Communément appelé staphylocoque doré, est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, ce sont des bactéries sphériques. Les staphylocoques sont des germes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano–muqueuses des mammifères.

### **IV.2.3- Champignons**

*Candida albicans* : Est un champignon de type levure c'est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Il vit à l'état naturel sur la peau, dans la bouche et le tube digestif de l'être humain.

*Saccharomyces Cerevisiae* : *S. cerevisiae* a été isolée de la flore intestinale chez l'humain, il est considéré comme un agent pathogène opportuniste de faible virulence.

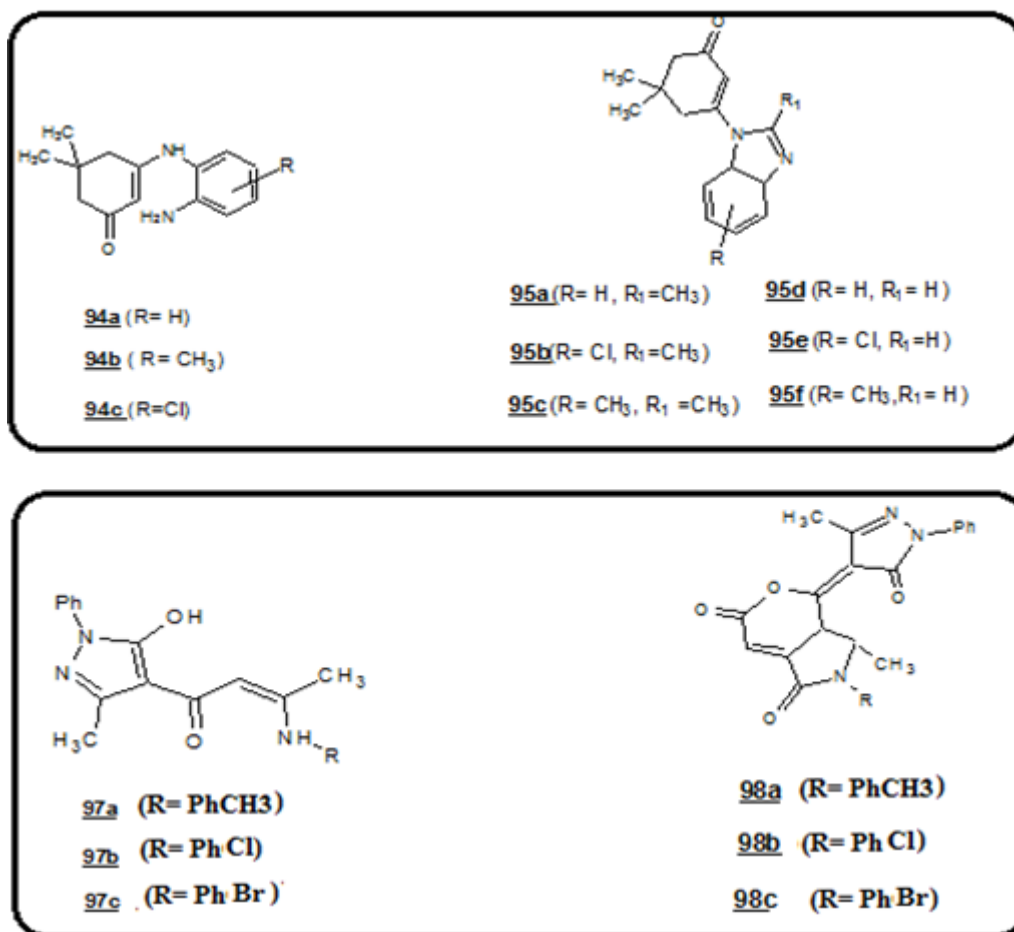
Le tableau IV.1 regroupe les différents germes ciblés dans notre étude. Ils ont été isolés et identifiés à partir de produits biologiques contaminés.

**Tableau IV.1 : Les différents germes étudiés.**

Les souches	Type	Infections courantes causées par ce type de souches
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci <b>G+</b>	Intoxications alimentaires, infections localisées suppurées et dans certains cas extrêmes et de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques).
<i>Escherichia coli</i>	Bacille <b>G-</b>	Gastro-entérites, méningites, abcès, péritonites, septicémies et surtout infections urinaires
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille <b>G-</b>	infections des voies respiratoires comme celles des poumons et plus spécifiquement des bronches ainsi que des angines, infection des voies biliaires et des plaies chirurgicales.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Champignon	La fongémie, un empyème, un abcès du foie, une péritonite, infection urinaire et une endocardite
<i>Candida albicans</i>	Champignon	Infections fongiques candidoses essentiellement au niveau digestives et gynécologiques.

### IV. 3- Méthodes microbiologiques utilisées

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien des composés issus de ce travail (Schéma IV.1) en utilisant deux méthodes de criblage: L'antibiogramme et la méthode de dilution en milieu solide. Des solutions mères de nos produits à tester et des antimicrobiens de référence ont été préparées stérilement grâce à un filtre millipore en utilisant le diméthyle sulfoxyde (DMSO) comme solvant. Pour assurer la survie des bactéries, nous avons utilisé comme milieu de culture la gélose Mueller Hinton(MH).



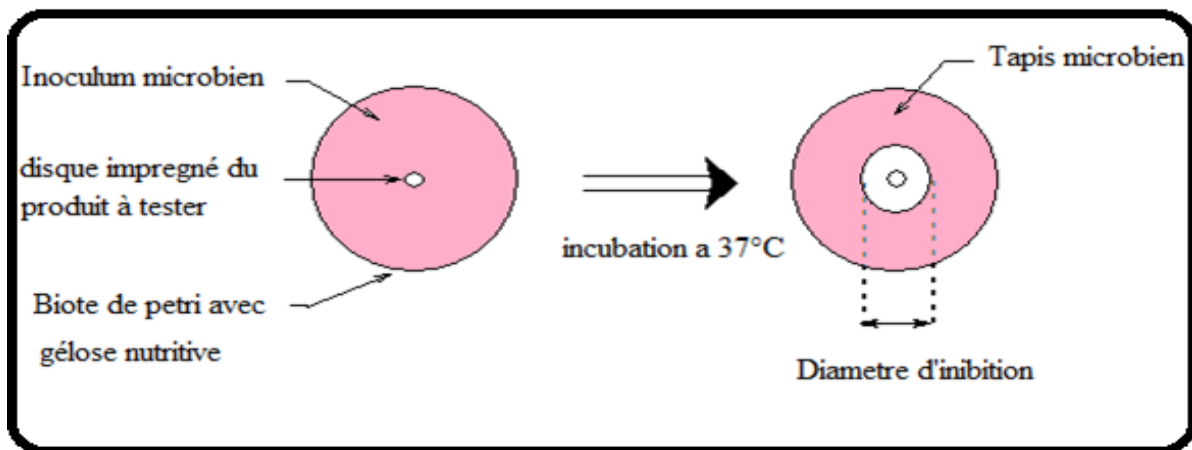
**Schéma IV.1** : Structures soumises aux tests microbiologiques

### IV3.1- *Technique de diffusion sur milieu gélosé : L'Antibiogramme*

Elle est aussi appelée méthodes des disques en papier, réalisée sur un milieu gélosé solide MH dans une boîte de Pétri. Toutes les manipulations sont réalisées sous atmosphère stérile autour d'un bec bunsen et les milieux de cultures ont été autoclavés à 121 °C pendant 15 mn. Elle consiste :

- A préparer des disques de papier filtre (6 mm de diamètre) imprégnés d'une concentration fixe 30 µg/mL des composés à étudier.
- Les disques sont par la suite déposés à la surface de la gélose préalablementensemencée par une suspension du micro-organisme cible à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.
- Les boîtes de pétri sont incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

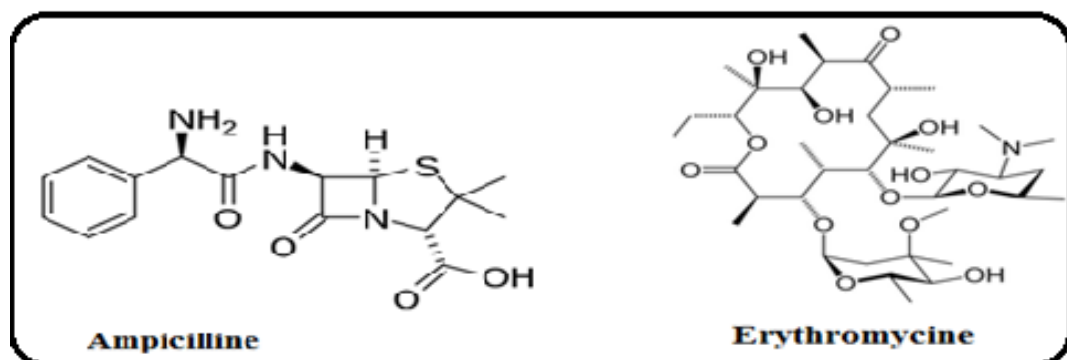
Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition (Figure IV.1) Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible à l'agent antimicrobien et plus ce dernier est puissant. Nous considérons comme actif le produit dont le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6mm.



**Figure IV.1** : Principe de la méthode de diffusion par disque

Une boîte témoinensemencée par un microorganisme donné et ne contenant aucun composé servira simultanément de contrôle pour chaque essai.

L'activité antibactérienne du diméthyle sulfoxyde (témoin négatif) solvant dans lequel ont été dissouts les composés à étudier a été préalablement testée aux concentrations utilisées et n'a montré aucun effet sur la croissance bactérienne. Nous avons également testé dans les mêmes conditions opératoires l'ampicilline, l'érythromycine (témoins positifs) pris comme antibiotiques de référence au cours de cette étude (Schéma IV.2).



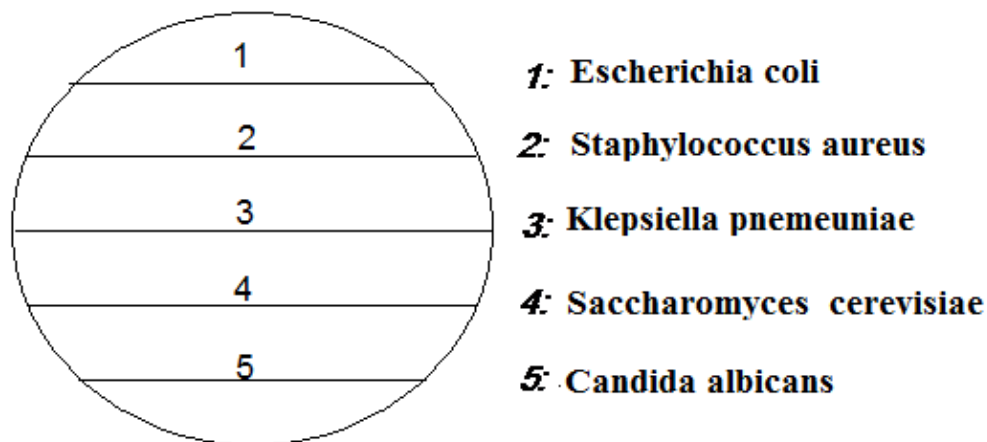
**Schéma IV.2:** Structures des antibiotiques de référence

L'ampicilline appartient à la famille des aminopénicillines à spectre large. Elle est utilisée pour traiter les infections bactériennes depuis 1961. Elle inhibe la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne.

L'érythromycine est une molécule naturelle faisant partie des macrolides avec un spectre d'action tourné principalement vers les Gram<sup>+</sup>. En effet, elle pénètre mal au travers de la membrane externe des Gram<sup>-</sup>. Elle inhibe la synthèse des protéines indispensables à la survie de la bactérie.

### **IV.3.2-Technique de dilution en milieu solide**

Cette technique est pratique et plus économique, elle permet de tester dans la même boîte plusieurs souches bactériennes déposées en surface sous forme de stries (Schéma IV.3).



**Schéma IV.3 :** Ensemencement des souches en stries.

Elle consiste à réaliser une gamme de dilutions de base 2, dans du DMSO, à partir des solutions mères de produits à tester. 1mL de chacune des dilutions de la gamme sont ajoutés dans des tubes contenant 19 mL de milieu gélosé MH, maintenus en surfusion dans un bain thermostaté à 55°C. La gamme de concentrations ainsi générée est de 50, 100, 150, 200 µg /ml. Le contenu de chaque tube est rapidement versé dans une boîte de Pétri stérile après une agitation de quelques secondes. Après solidification de la gélose, les différentes souches microbiennes sont déposées en surface sous forme de stries à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

La lecture des résultats permet de déterminer la CMI qui est définie comme la plus petite concentration de produit pour laquelle aucune croissance n'est visible (inhibition totale) comparativement au témoin sans produit.

#### IV.4- Résultats et Discussions

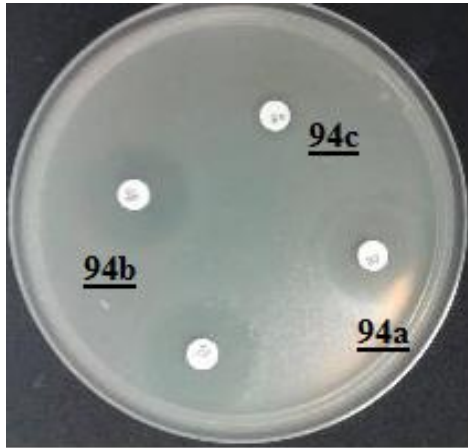
##### ❖ *Méthode des disques (Antibiogramme)*

La mesure des diamètres des auréoles d'inhibition a conduit aux résultats présentés sur le tableau IV.2, dans lequel figurent également les diamètres correspondants aux antibiotiques de référence.

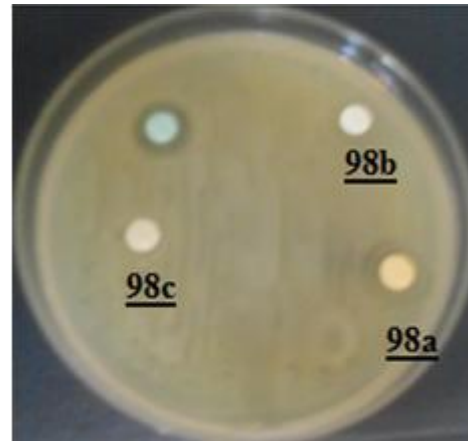
**Tableau IV.2:** *Diamètres des zones d'inhibition (mm) des composés synthétisés sur les souches ciblées*

composés	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
<b>94a</b>	11	10	<6	<6	08
<b>94b</b>	12	12	<6	<6	11
<b>94c</b>	10	09	<6	<6	10
<b>95a</b>	10	<6	<6	<6	11
<b>95b</b>	11	<6	<6	<6	09
<b>95c</b>	10	<6	<6	<6	12
<b>95d</b>	12	<6	<6	<6	<6
<b>95e</b>	10	<6	<6	<6	12
<b>95f</b>	12	7	<6	<6	16
<b>97a</b>	<6	<6	<6	<6	<6
<b>97b</b>	11	<6	<6	<6	<6
<b>97c</b>	10	<6	<6	<6	<6
<b>98a</b>	13	<6	<6	<6	<6
<b>98b</b>	11	08	<6	<6	<6
<b>98c</b>	<6	<6	<6	<6	12
<b>DMSO</b>	<6	<6	<6	<6	<6
<i>Ampicilline</i>	25	19	<6	<6	<6
<i>Erythromycine</i>	15	15	10	<6	<6

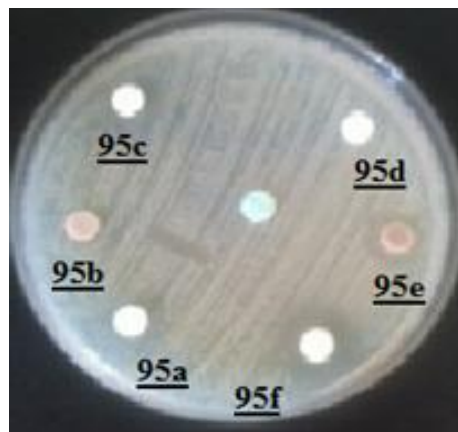
Les photos de la figure IV.2 montrent les auréoles d'inhibition de la croissance du *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans* autour des disques de dépôt de quelques produits actifs.



*Staphylococcus Aureus*



*Staphylococcus Aureus*



*Candida Albicans*

**Figure IV.2** : Photos représentant les zones d'inhibition des produits actifs.

❖ *Méthode de dilution en milieu solide*

Les CMI des composés préparés dans ce travail ont été déterminées sur toutes les souches microbiennes étudiées. Les résultats obtenus sont indiqués sur les tableaux IV.3 et IV.4.

**Tableau IV.3:** Tests de détermination de la CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des composés sur les germes étudiés.

composés	C ( $\mu\text{g/ml}$ )	Souches bactériennes			Souches fongiques	
		<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	<i>Candida Albicans</i>
<b>94a</b>	50	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+
	150	-	+	+	+	+
	200	-	-	+	+	-
<b>94b</b>	50	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+
	150	-	-	+	+	+
	200	-	-	+	+	-
<b>94c</b>	50	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+
	150	+	+	+	+	+
	200	-	-	+	+	-
<b>95a</b>	50	+	+	+	+	+
	100	-	+	+	+	-
	150	-	+	+	+	-
	200	-	+	+	+	-
<b>95b</b>	50	+	+	+	+	-
	100	-	+	+	+	-
	150	-	+	+	+	-
	200	-	+	+	+	-
<b>95c</b>	50	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+
	150	-	+	+	+	+
	200	-	+	+	+	-
<b>95d</b>	50	+	+	+	+	+
	100	-	+	+	+	+
	150	-	+	+	+	+
	200	-	+	+	+	+
<b>95e</b>	50	+	+	+	+	-
	100	-	+	+	+	-
	150	-	+	+	+	-
	200	-	+	+	+	-
<b>95f</b>	50	+	+	+	+	-
	100	+	+	+	+	-
	150	-	+	+	+	-
	200	-	+	+	+	-

**Tableau IV.3**

	composés	C (µg/ml)	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Echerichia Coli</i>	<i>Klebsiella Preumoniae</i>	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	<i>Candida Albicans</i>
	<b>97a</b>	50	+	+	+	+	+
		100	+	+	+	+	+
		150	+	+	+	+	+
		200	+	+	+	+	+
	<b>97c</b>	50	-	+	+	+	+
		100	-	+	+	+	+
		150	-	+	+	+	+
		200	-	+	+	+	+
	<b>97b</b>	50	-	+	+	+	+
		100	-	+	+	+	+
		150	-	+	+	+	+
		200	-	+	+	+	+
	<b>98a</b>	50	-	+	+	+	+
		100	-	+	+	+	+
		150	-	+	+	+	+
		200	-	+	+	+	+
	<b>98b</b>	50	+	+	+	+	+
		100	+	+	+	+	+
		150	+	+	+	+	+
		200	-	-	+	+	+
	<b>98c</b>	50	+	+	+	+	-
		100	+	+	+	+	-
		150	+	+	+	+	-
		200	+	+	+	+	-

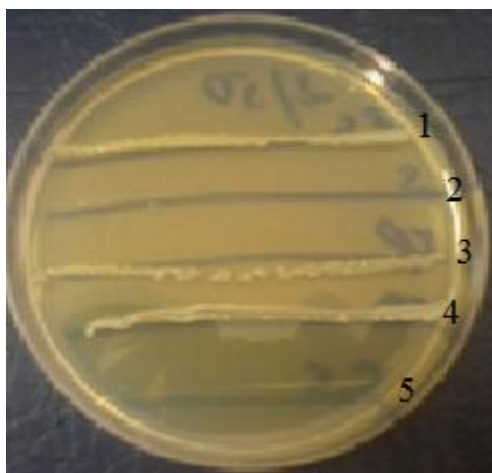
(+) : Croissance (-) : Absence de croissance

Les résultats portés sur le tableau IV.3 nous ont permis de déterminer les intervalles des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des composés testés sur les diverses souches étudiées tableau IV.4. Dans ces tests, les produits les plus intéressants seront ceux dont la CMI est la plus faible possible, soit ceux pour lesquels le moins de substance est nécessaire pour inhiber la croissance microbienne.

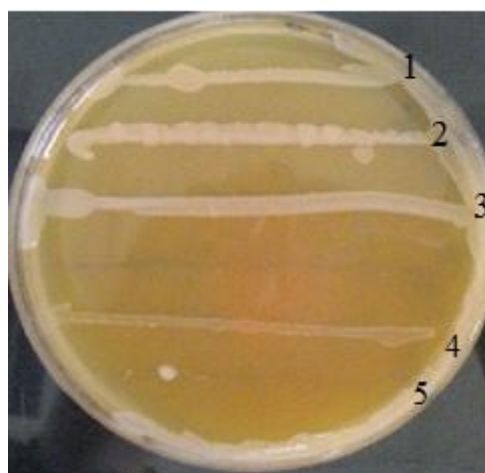
**Tableau IV.4 :** CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des composés synthétisés sur les germes ciblés.

	Souches bactériennes CMI en ( $\mu\text{g/ml}$ )			Souches fongiques CMI en ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
<b><u>94a</u></b>	100-150	150-200	>200	>200	150-200
<b><u>94b</u></b>	100-150	100-150	>200	>200	150-200
<b><u>94c</u></b>	150-200	150-200	>200	>200	150-200
<b><u>95a</u></b>	50-100	>200	>200	>200	50-100
<b><u>95b</u></b>	50-100	>200	>200	>200	<50
<b><u>95c</u></b>	100-150	>200	>200	>200	150-200
<b><u>95d</u></b>	50-100	>200	>200	>200	>200
<b><u>95e</u></b>	50-100	>200	>200	>200	<50
<b><u>95f</u></b>	100-150	>200	>200	>200	<50
<b><u>97a</u></b>	>200	>200	>200	>200	>200
<b><u>97b</u></b>	<50	>200	>200	>200	>200
<b><u>97c</u></b>	<50	>200	>200	>200	>200
<b><u>98a</u></b>	<50	>200	>200	>200	>200
<b><u>98b</u></b>	150-200	150-200	>200	>200	>200
<b><u>98c</u></b>	>200	>200	>200	>200	<50

A titre d'exemple nous donnons sur la figure IV.3, les photos correspondants aux tests de détermination des CMI des composés **95f** (150µg/ml) et **98c** (100 µg/ml) par la méthode de dilution en milieu solide sur l'ensemble des souches étudiées.



Dérivé **95f**



Dérivé **98c**

**Figure IV.3** : Tests de détermination des CMI des dérivés **95f** et **98c**

Sur la base de ces résultats on relève les constatations suivantes :

Les souches *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae* et *Saccharomyces Cerevisiae* ont été résistantes à la majorité des composés testés.

#### **Les énaminones 94.**

- D'après les zones d'inhibition, générées par les énaminones **94**, les germes qui ont été sensibles à leur action sont *Staphylococcus aureus* (10-11mm), *Escherichia coli* (9-12mm) et le champignon *Candida aalbicans* (8-11mm) avec des CMI (µg/ml) comprises dans des intervalles ci-dessous :

100 < CMI < 200 pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

150 < CMI < 200 pour *Candida albicans*.

- la substitution sur le motif phénylène diamine du Chlore dans le dérivé **94c** (9-10mm) par un groupement méthyle **94b** (11-12 mm) engendre une amélioration de l'activité antimicrobienne.

### Les benzimidazoles 95 :

- La bactérie *Staphylococcus aureus* (10-12mm), et le champignon *Candida albicans* (9-16mm) ont été sensible aux dérivés 95.
  - Pour *Staphylococcus aureus* les CMI sont comprises entre (50- 150µg/ml).
  - Pour *Candida albicans* :
    - les dérivés 95b, 95e et 95f présentent les CMI les plus faibles (<50 µg/ml).
    - Les dérivés 95a, 95c ont des CMI allant de 50 à 200µg/ml, alors que pour 95d elle est supérieure à 200 µg/ml.
- L'insertion d'un groupement méthyle en position 2 dans les benzimidazoles 95a (10 mm) et 95c (10 mm), induit une diminution de la croissance du *Staphylococcus aureus* pour 95d (12 mm) et 95f (12 mm).
- Parmi les produits 95 testés les dérivés Chlorés 95c (12 mm) et 95f (16 mm) ont été les plus actifs sur *Candida albicans*.

### Les énaminopyrazoles 97

- Les produits 97 (diamètres < 6mm) n'exercent aucune activité antifongique sur la souche *Candida albicans*
- Avec des CMI relativement basses (< 50 µg/ml), les produits 97b (11 mm) et 97c (10 mm) inhibent la croissance de la bactérie Gram<sup>+</sup> *Staphylococcus aureus*. En revanche la CMI du dérivé inactif 97a (diamètre < 6mm) est supérieure à 200 µg/ml.

### Les pyrazolopyranopyrrolidines 98

- La souche *Escherichia coli* est faiblement sensible au composé 98b (8mm) avec une CMI comprise entre 150 et 200 µg/ml.
- Les dérivés 98a (13mm) et 98b (11mm) ont montré une activité anti-Staphylococcique significative, avec des CMI <50 µg/ml pour le produit 98a et comprise dans l'intervalle 150 - 200 µg/ml pour 98b.
- L'introduction d'un chlore dans le dérivé 98c (diamètre < 6 mm ; CMI > 200 µg/ml) a annulé l'activité antibactérienne, en revanche elle a induit une inhibition de la

croissance de la souche fongique *Candida albicans* avec un diamètre de 12 mm et une CMI (<50 µg/ml) relativement basse.

## **Conclusion**

Les tests microbiologiques préliminaires réalisés in vitro sur les composés issus de ce travail ont révélé pour certains, par rapport à l'ampicilline et l'érythromycine pris comme antibiotique de référence, une activité antibactérienne et antifongique modérée.

L'analyse des résultats montre qu'au sein des micro-organismes étudiés, il existe des degrés de sensibilité différents vis-à-vis des produits testés.

La bactérie la plus sensible à l'action des composés testés est la bactérie Gram positive *S. aureus* avec des diamètres allant de 10 à 13 mm. En effet, les CMI obtenues sur cette dernière sont généralement plus basses que celles produites sur les bactéries Gram négatives (*Escherichia-coli*, *Klebsiella Preumoniae*). Ceci peut être expliqué par la structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives qui est moins complexe (perméable aux agents antibactériens) que celle des bactéries Gram négatives.



## **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Les différentes études entreprises dans le cadre de ce travail ont eu pour objectif principal l'élaboration d'hétérocycles d'intérêt biologique à partir de  $\beta$ -énaminones issues de deux synthons réactifs, la dimédone et l'acide déhydroacétique qui offrent des potentialités synthétiques considérables.

Les résultats essentiels obtenus ont été analysés comme suit :

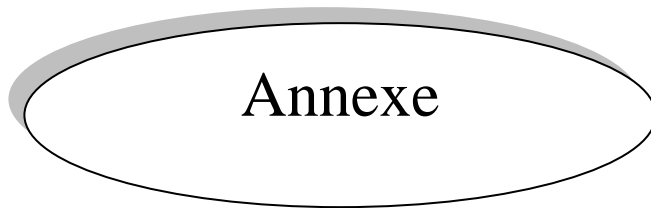
- Nous avons dans un premier temps préparé au départ de la dimédone (1,3-dicéto-cyclique) et des *o*-phénylènediamines les énamino-dimédones **94** qui serviront comme synthons de base dans la suite de ce travail.
- Grâce à la réactivité du système énamino-dimédone **94**, des réactions d'hétérocyclisation ont été effectuées sur ce dernier, en présence des aldéhydes masqués (DMF- DMA, DMA-DMA) sous chauffage classique, donnant l'accès avec de bons rendements à une famille de composés incorporant le noyau benzimidazole **95**. Les mêmes réactions réalisées en absence de solvant sous irradiations par micro-ondes ont permis de réduire de façon significative les temps réactionnels et d'obtenir des rendements comparables à ceux obtenus par chauffage classique voire supérieurs dans certains cas.
- Dans l'optique d'élargir le champ d'application des énamino-dimédones nous avons procédé à une séquence de réactions sur l'acide déhydroacétique (DHA), en présence des hydrazines puis des amines. Ces réactions ont conduit, par ouverture du cycle pyrone du DHA, aux systèmes  $\beta$ -pyrazolo-énaminones **97**.
- Nous avons par la suite exploré dans le dichlorométhane, la réactivité des énamino-pyrazoles **97** vis à vis d'un agent biélectrophile le chlorure de fumaryle. Cette étude a permis d'isoler en une seule étape avec des rendements satisfaisants une série de composés tricycliques inédits de type pyrazolo-pyranopyrrole-1,6-dione **98**, composés attractifs quant à leur potentiel thérapeutique. Au cours de cette synthèse, nous avons observé un aspect inattendu sur la réactivité, des énamino-dimédones **97** vis-à-vis de ce réactif biélectrophile, à savoir l'implication des trois sites nucléophiles de **97** dans la formation des structures **98**.
- Les structures de tous les composés synthétisés ont été déterminées par une étude spectroscopique I.R, R.M.N <sup>1</sup>H, R.M.N <sup>13</sup>C, spectrométrie de masse et RX pour la structure **98**.

➤ L'étude spectroscopique a permis de proposer une configuration trans pour la structure **98**. Les mécanismes impliqués dans les diverses réactions ont fait l'objet d'une étude détaillée.

➤ L'analyse des résultats des tests microbiologiques montrent qu'au sein des micro-organismes étudiés, il existe des degrés de sensibilité différents vis-à-vis de quelques produits testés. Ces derniers ont révélé, par rapport à l'ampicilline et l'érythromycine pris comme antibiotique de référence, une activité antibactérienne et antifongique modérée.

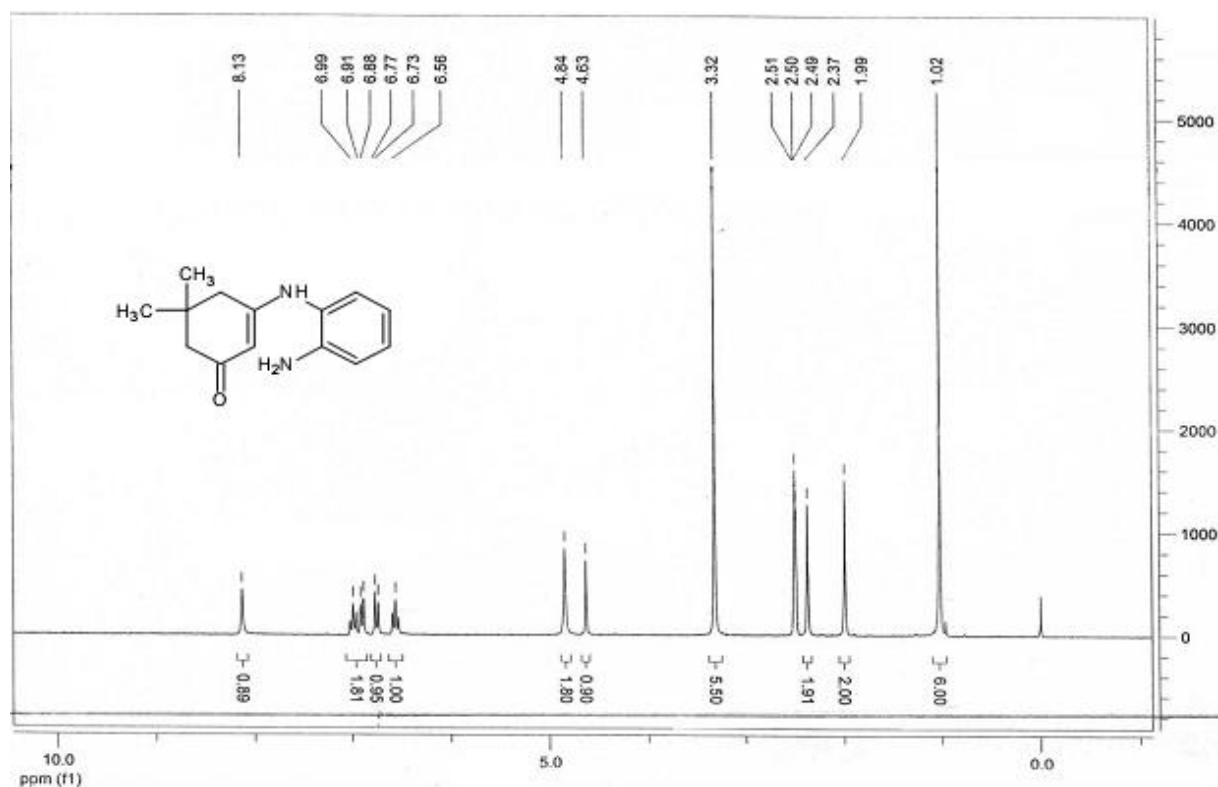
➤ La bactérie la plus sensible à l'action des composés testés est la bactérie Gram positive *S. aureus* avec des diamètres allant de 10 à 13 mm et des CMI relativement basses.

Les résultats obtenus ouvrent des perspectives intéressantes. Ils permettront, en opérant d'autres pharmacomodulations sur les différents dérivés synthétisés, d'orienter nos travaux de synthèse vers la préparation de molécules dont le profil pharmacologique est susceptible d'être amélioré ou modifié.

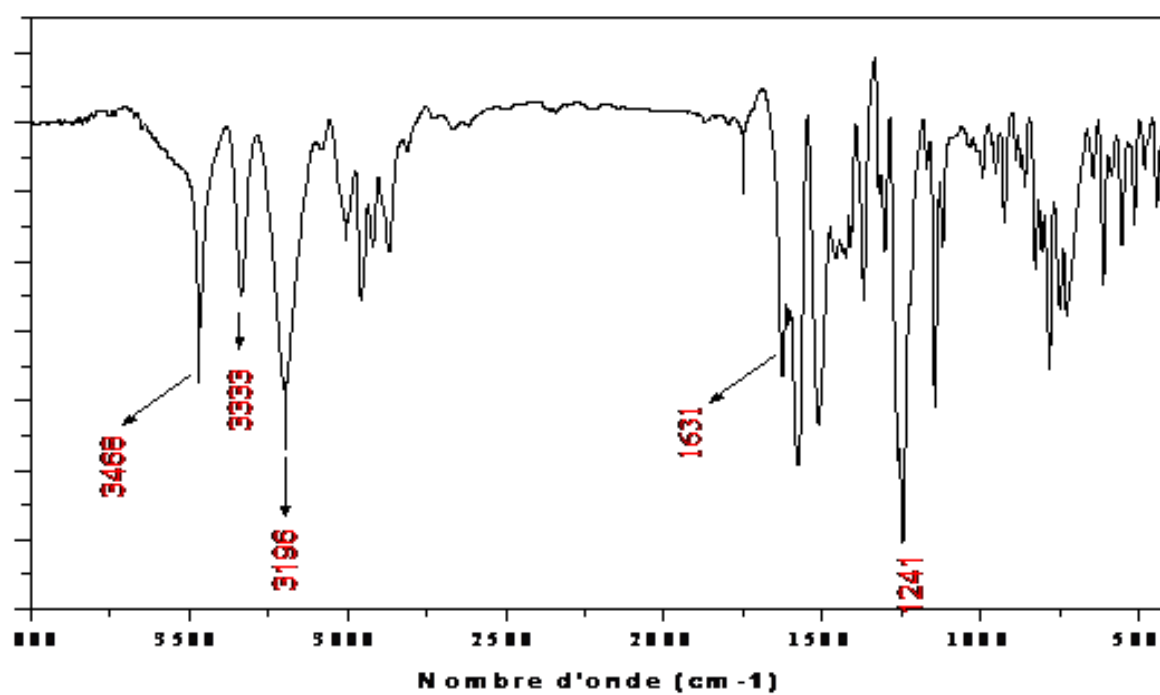


Annexe

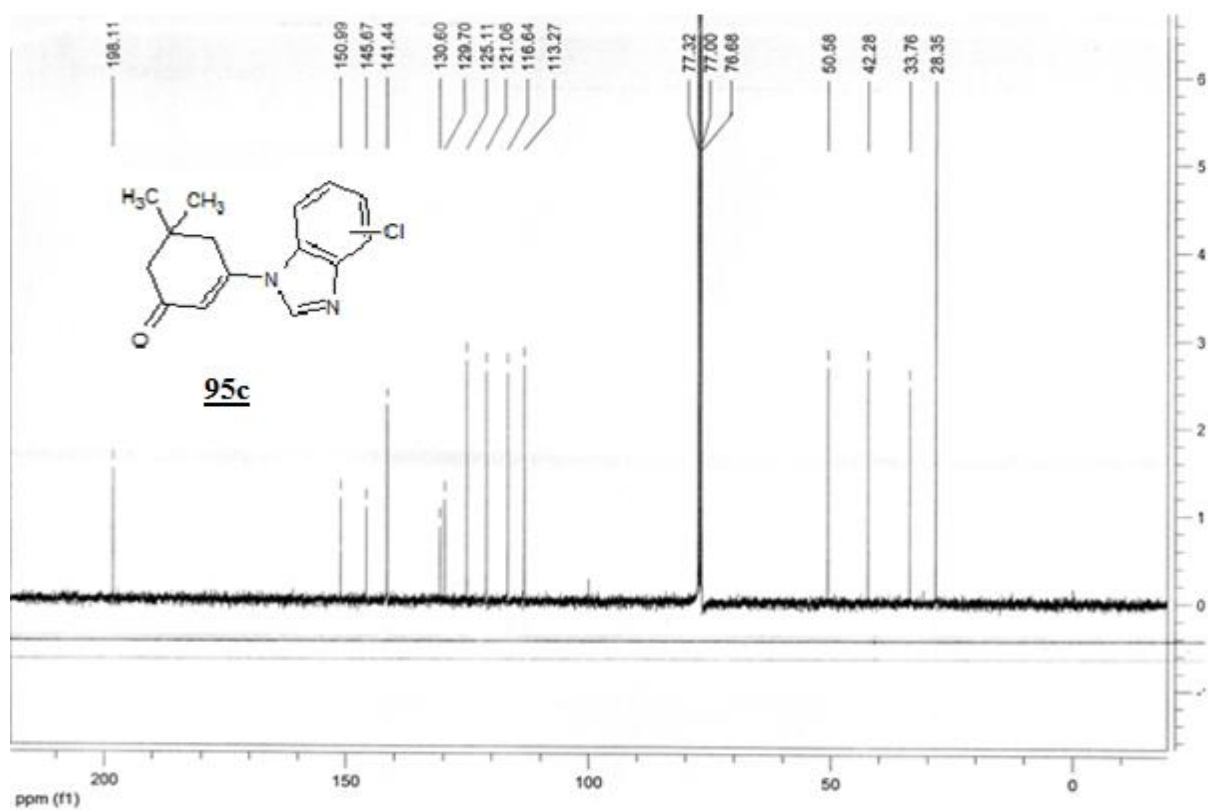
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans le DMSO-d6 à 400 MHz du composé **94a**



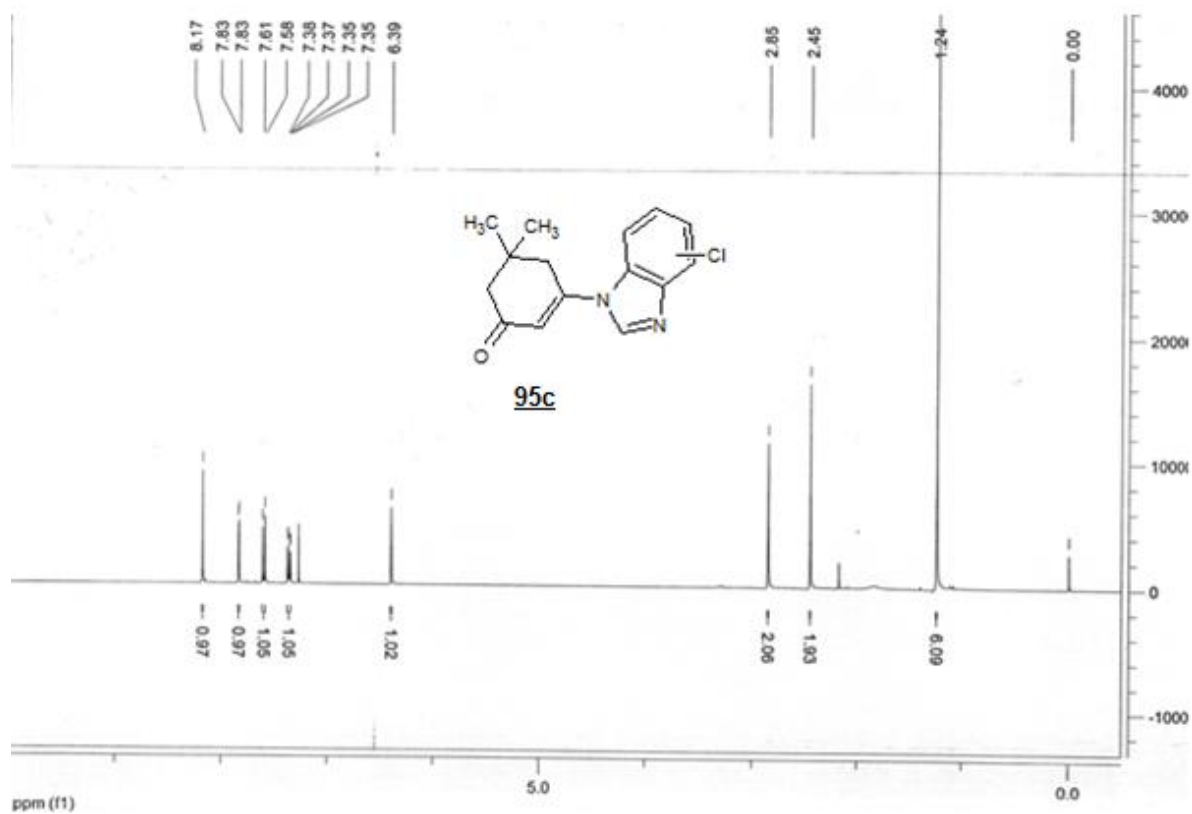
Spectre infrarouge du composé **94a**



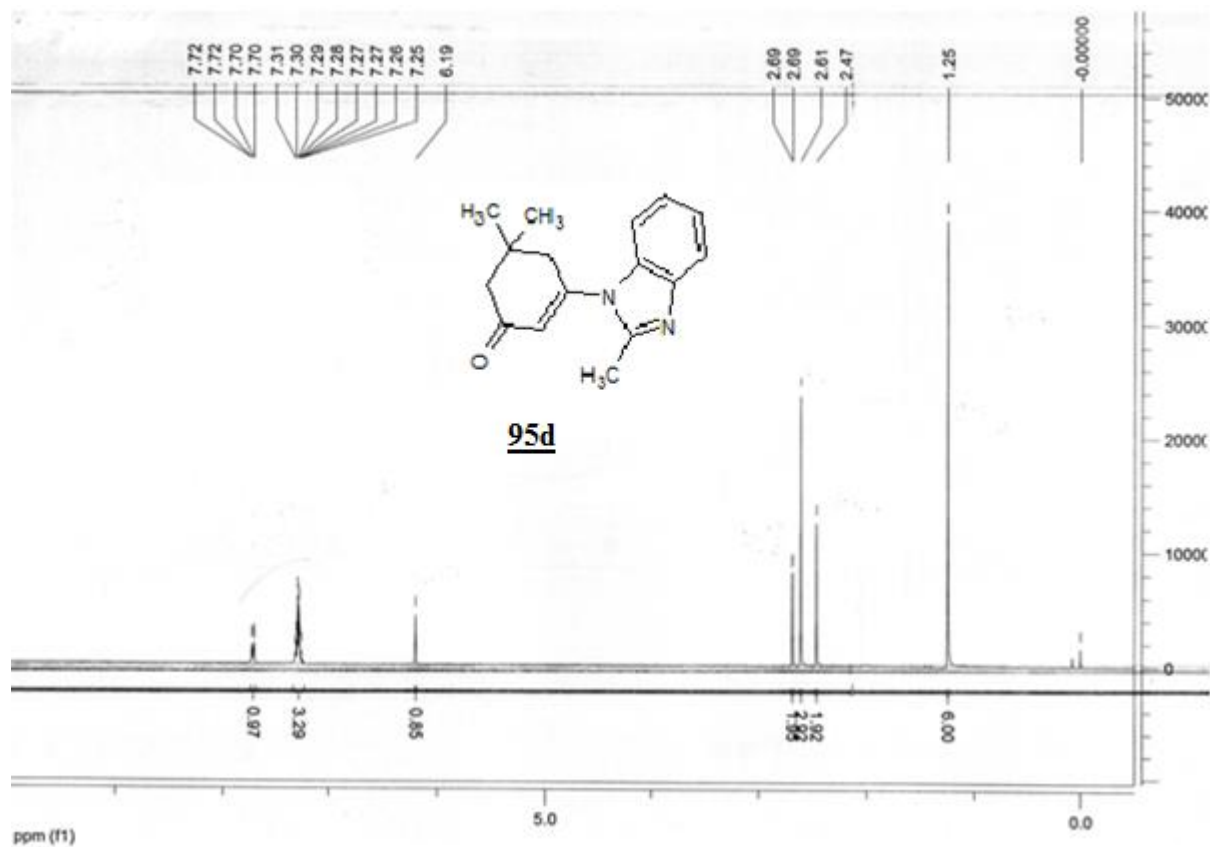
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  à 400 MHz du composé **95c**



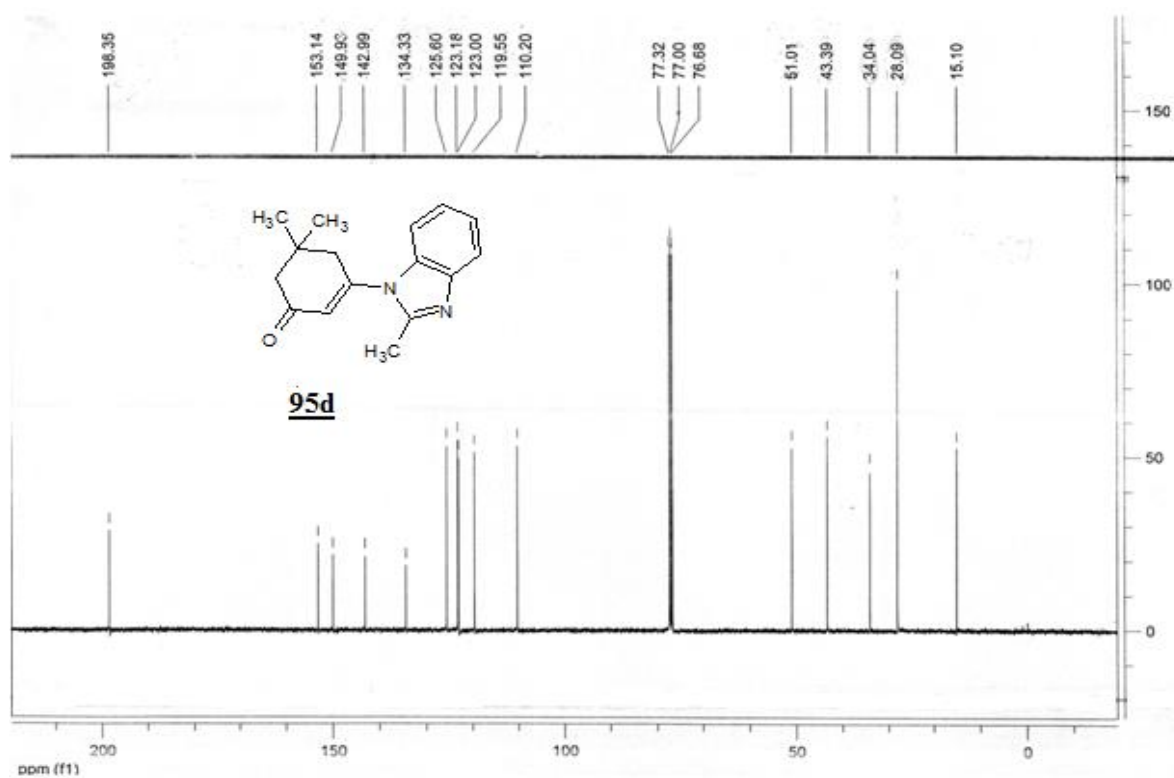
Spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  à 400 MHz du composé **95c**



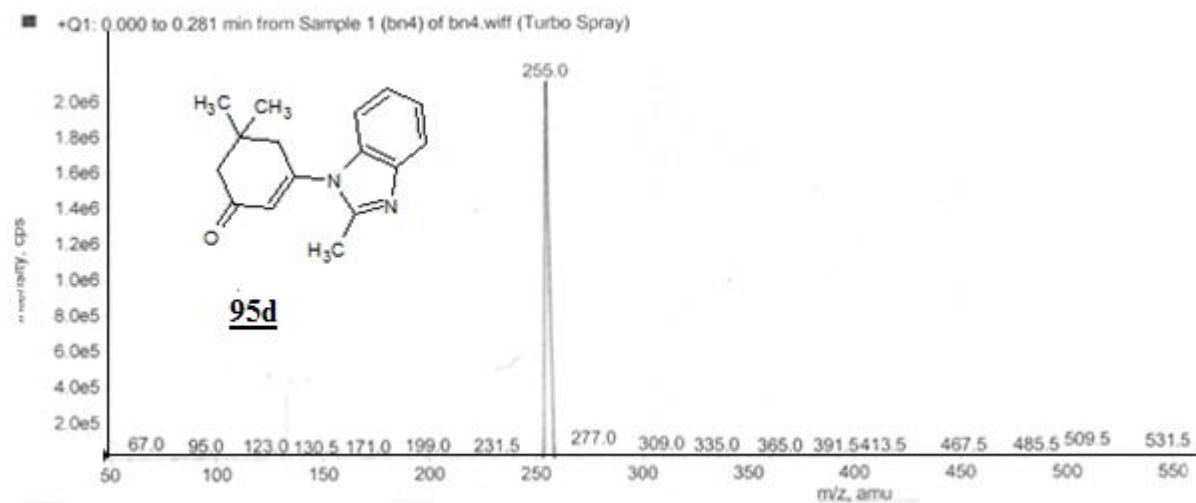
Spectre RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  à 400 MHz du composé **95d**



Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  à 400 MHz du composé **95d**



Spectre de masse ESI en mode positif du composé **95d**



Spectre infrarouge du composé **98a**

