

N° d'ordre : 79/2021-C/CH

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMÉDIÈNE
FACULTÉ DE CHIMIE



THÈSE DE DOCTORAT

Présentée pour l'obtention du grade de **Docteur**

En : **CHIMIE**

Spécialité : **Chimie du Médicament**

Par : **SAIDI LYDIA**

Thème :

**Étude de quelques dérivés hétérocycliques azotés et
oxygénés : synthèse, fonctionnalisation et propriétés
biologiques**

Soutenue publiquement, le 07/07/2021, devant le jury composé de :

Mme C. RABIA	Professeur à l'USTHB	Présidente
Mme B. KOLLI	Professeur à l'USTHB	Directrice de thèse
Mme N. SALHI	Professeur à Blida	Examinatrice
Mme S. BAKHTA	M.C.A à l'USTHB	Examinatrice
Mme F. AKACEM	Docteur en pharmacie/ PDG de SAIDAL	Invitée

Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce modeste travail.

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche entre le laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA) de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène (USTHB) sous la direction de Madame la Professeure NEDJAR-KOLLI Bellara et le département de chimie (QOPNA& LAQV-REQUIMTE) de l'Université d'Aveiro, Portugal. J'aimerais via ces quelques lignes remercier les personnes qui ont contribué au déroulement, à l'élaboration et à l'évaluation de cette thèse.

Je tiens à présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à ma directrice de thèse, Madame la Pr. NEDJAR-KOLLI Bellara pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et d'avoir accepté de m'encadrer et surtout pour avoir tout fait pour que je puisse poursuivre ma thèse dans les meilleures conditions en guidant mes premiers pas dans le monde de la synthèse organique. Ainsi je la remercie vivement pour sa disponibilité, son appui, ses discussions fructueuses, ses conseils avisés, pour le temps octroyé à ce manuscrit et pour ce côté "perfectionniste" qui a au final beaucoup amélioré ce travail.

Je suis particulièrement reconnaissante envers Monsieur le Pr. Artur SILVA de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pendant un an et demi et de m'avoir donné les moyens d'accomplir ce travail dans les meilleurs conditions. Son soutien m'était inestimable, tant au niveau scientifique qu'humain. Même si les mots me manquent pour lui exprimer toute ma gratitude. Merci de m'avoir fait partager votre passion pour la chimie, «Eu nunca vou esquecer tudo o que você fez por mim, Muito Obrigada Professor».

J'adresse mes sincères remerciements à Madame **C. RABIA**, Professeure à l'USTHB, d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

J'exprime ma profonde gratitude à Madame **F. AKACEM**, Docteur en pharmacie et Président-directeur général de Saïdal, d'avoir acceptée de juger mon travail de thèse.

Je tiens également à remercier Madame **N. SALHI**, Professeure à l'université Saad Dahleb de Blida, et Madame **S. BAKHTA**, Maître de conférences A à l'USTHB, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je voudrais également associer mes remerciements à Monsieur **TALHI Oualid**, Maître de recherche A au CRAPC (Tipaza), pour son aide et ses bons conseils et pour les techniques

qu'il m'a apprises à la paillasse. Ainsi que pour son humanisme et sa très agréable compagnie au laboratoire d'Aveiro.

Mes remerciements s'adressent également à Madame la Pr. Luisa A. Helguero, la Dr. Djenisa H. A. Rocha et la Pr. Susana.M. Cardoso respectivement de l'institut de biomédecine (iBiMED) et du laboratoire de Chimie organique, produits naturels et denrées alimentaires (QOPNA), Université d'Aveiro, pour les facilités accordées dans la réalisation des tests biologiques. Ainsi qu'au Pr. Filipe A. A. Paz de l'unité CISCO, de l'université Aveiro, pour la partie réservée aux analyses de spectroscopie des rayons X.

Un grand merci à l'ensemble des membres de notre laboratoire, doctorants et enseignants, ma grande famille durant ces années, pour l'ambiance très agréable au laboratoire, pour leurs encouragements et leurs conseils toujours pertinents.

Une pensée émue et profonde pour tous les membres du laboratoire (QOPNA) que j'ai eu l'honneur de côtoyer durant mon séjour à Aveiro pour leur gentillesse, leur bonne humeur, leur sollicitude et leur disponibilité ; en particulier Sara Tomé « Você era mais do que um colega para mim, eu nunca esquecerei todos os bons momentos que tivemos juntos, obrigado por sua simpatia, sua bondade e seu apoio » « por todos os bons momentos que tivemos »

Mes sincères remerciements vont à tous les enseignants, qui m'ont fait profiter de leur savoir tout au long de mon parcours d'étude.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique pour m'avoir financé durant mon stage au Portugal dans le cadre du Programme National Exceptionnel (PNE).

Je ne saurais finir sans exprimer mes remerciements les plus sincères à mes chers parents, mes sœurs et mon frère, leurs aides et leurs soutiens m'étaient les plus réconfortants durant tout le long de mes études. Qu'ils trouveront la preuve de ma profonde reconnaissance. Merci également ma belle famille pour leurs encouragements et leurs soutiens moral tout au long de ces années.

Enfin je voudrais remercier mon mari, Mohamed. Je ne saurais jamais quels sont les bons mots pour te remercier de tout ce que tu as fait pour moi. Merci de m'avoir accompagné tout au long de mes études, Merci pour ta confiance, ton oreille attentive même lorsque je te parlais de chimie, tes conseils et tes encouragements. Merci d'être toi.

Dédicaces

Je Dédie ce travail à :

Mes chers parents

Mon mari

Mes sœurs

Mon frère et son épouse

Ma belle famille

*A toute ma famille, mes amis et à tous ceux
qui ma réussite leur tient à cœur.*

*Avec toute ma reconnaissance et tout mon
amour.*

Abréviations et acronymes

A

A-375 : La lignée de cellule de mélanome.
A549 : la lignée de cellules épithéliales alvéolaires humaines.
Abs : Absorbance.
ABTS : 2,2'-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
ACAH : Acide cyano acétique hydrazide.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdien.
AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.
Anhy : Anhydre.
ASK : Apoptosis signal-regulated kinase.

B

BCA-1: B cell-attracting chemokine 1.
BF₃ : Trifluorure de bore.
BP : Benzophénone.
BT0009K: 4-(2-méthyl-benzoyl)-phénoxy] acétamide.

C

CCM : Chromatographie sur couche mince.
CCl₄ : Tétrachlorométhane.
CDCl₃ : Chloroforme deutéré.
CHCl₃ : Chloroforme.
CH₂Cl₂ : Dichlorométhane.
CH₃MgCl : Chlorure de méthylmagnésium.
CH₃NO₂: Nitrométhane.
CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer
Cl₂ : Dichlore.
Col -2 : Cellosaurus cell line.
CuBr : Le bromure de cuivre (I)

D

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène.
d: doublet.
dd : doublet de doublet.
ddd : le double du doublet de doublet.
DMEM: Dulbecco's Modified Eagles Medium.
DGF254 (Merck) : Plaque de gel de silice
DIEA : N,N-Diisopropyléthylamine.
DMF : N,N-Diméthylformamide.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.
DMSO-d6: Diméthylsulfoxyde deutéré.
DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
DPPH₂: 1, 1 diphényl-2-picrylhydrazine.
DRX: Diffraction des rayons X.

E

EAC : carcinome d'ascite d'Ehrlich
ED50 : Dose efficace médiane.
ESI-MS : Électrospray-spectrométrie de masse.
EtOH: Ethanol.

F

FBS: Sérum bovin fœtal.
FDA: Food and Drug Administration.

H

Hone-1 : Cellosaurus cell line.
HCT116 : Lignée cellulaire humaine de tumeur du côlon.
HMBC: Heteronuclear multiple - bond correlation.
HRMS : Spectre de masse à haute résolution.
HSQC: Heteronuclear single-quantum correlation.
Hz : Hertz.

I

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry.
IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

K

K₂S₂O₈: Persulfate de potassium
K₂CO₃: Carbonate de sodium.
Ki67 : Indice de coloration
KOH: Hydroxyde de potassium

L

Lu-1 : Cellosaurus cell line.

M

m : multiplet.
MCF-7 : Lignée de cellules tumorales mammaires.
MHz : MégaHertz.

N

NaHCO₃ : Bicarbonate de sodium.
NaNO₂ : Nitrite de sodium.
NaOH : Hydroxyde de sodium.
NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide.
NBT : Nitro bleu tétrazolium.
NH₂NH₂ : Hydrazine.
NH₃ : Ammoniac.
NO : Oxyde nitrique
NO₂⁻ : Nitrite.
NOE : Nuclear Overhauser effect.
NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy.

O

O₂^{•-} : Anion radical superoxyde

P

P-388 : Cellules de leucémie.
P_{21/n} : Groupe spacial centrosymétrique
PCl₅ : Pentachlorure de phosphore.
Pd-C : Palladium sur charbon.
Pd-Cl₂ (PhCN)₂ : Bis(benzonitrile)palladium(II) Dichloride.
PF : Température de fusion
pH : Potentiel hydrogène.
POCl₃ : Trichlorure de phosphoryle.
ppm : Partie par million.

Q

Q-TOF: Quadrupole-Time Of Flight.

R

Rdt : Rendement .
RMN : Résonance magnétique nucléaire.
RMN 2D : Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle.
RNS: Reactive nitrogen species.
ROS: Reactive oxygen species.
RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium.
rt : Room temperature.

S

s : Singulet.

SAR : Relation- Structure –Activité.

SNP : Solution Nitroprussiate de sodium.

STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3.

T

t : triplet.

THF : Tétrahydrofurane.

TMS : Tétraméthylsilane

U

UV : Ultraviolet.

Z

ZnCl₂ : Chlorure de zinc.

Autres

4.PPy : 4-Pyrrolidinopyridine.

°C : Degré Celsius

δ : Déplacement chimique.

J : Constantes de couplage.

m/z: Rapport masse sur charge.

Δ : Chauffage classique

h: Heures

μL : microlitre.

mM : millimolaire.

nM : nanomolaire.

μM : micromolaire.

SOMMAIRE

L'INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
I. Introduction.....	4
II. Rappels bibliographiques sur les dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidiniques et pyrazolopyridiniques	5
II.1. Les dérivés pyrazolones.....	5
II.1.1. Le motif pyrazolone.....	5
II.1.2. Intérêt biologique des pyrazolones	6
II.1.3. Intérêt pharmaceutique du noyau pyrazolone	7
II.1.4. Méthodes de synthèse des noyaux pyrazolones	8
II.2. Les dérivés pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones	13
II.2.1. Intérêt biologique et pharmaceutique des pyrazolopyridinones et des pyrazolopyrimidinones.....	13
II.2.2. Méthodes de synthèse des dérivés pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones	14
II.2.2.1. Les principales méthodes d'accès aux pyrazolopyridinones	14
II.2.2.2. Les principales méthodes d'accès aux pyrazolopyrimidinones	18
III. Le motif 2-cyanoacétohydrazide	27
I. Introduction	30
II. préparation des précurseurs 118a-e	32
III. Action des 3-formylchromones sur les intermédiaires 108a-e	33
III.1. Mécanisme réactionnel.....	33
III.2. Caractérisation spectrale des composés 110a-k	35
III.2.1. Etude en spectroscopie de masse à haute résolution (HRMS).....	35
III.2.2. Etude en Résonance Magnétique Nucléaire de RMN	36
III.2.2.1. Etude en RMN ¹ H.....	36
III.2.2.2. Etude par spectroscopie RMN ¹³ C, HSQC et HMBC.	38
III.2.3. Analyse cristallographique du composé 110e	40
IV. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 108a-e	42
IV.1. Etude de la régiosélectivité des réactions des précurseurs 108a-e vis-à-vis l'acide acétique glacial en fonction de la nature du groupement R sur la maléimide.....	43
IV.1.1. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 108a-c où R= Aliphatique	44
IV.1.1.1. Mécanisme réactionnel des dérivés 111a-c	44
IV.1.2. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 111d-e où R= Aromatique.....	45
IV.1.2.1. Mécanisme réactionnel des dérivés 111d-e	45

IV.2. Etude structurale des pyrazolones/pyrazolopyrimidinones 111ac/111d-e	47
IV.2.1. Etude par spectrométrie de masse	47
IV.2.2. Etude par spectroscopie de RMN.....	47
IV.2.2.1. Etude par spectroscopie de RMN ¹ H	47
IV.2.2.2. Etude par spectroscopie de RMN ¹³ C	49
IV.2.2.3. Étude par spectroscopie RMN 2D des produits 111b et 111d	50
IV.3. Analyse cristallographique des composés 111b et 111d	53
V. Conclusion	55
II. Procédé général de la synthèse des pyrazolopyridinones 110a-k	59
III. Procédé général de la synthèse des pyrazolones 111a-c et pyrazolopyrimidinones 111d-e	67
I. Introduction	72
II. Rappels bibliographiques sur les dérivés benzophénones	73
II.1. Le motif benzophénone	73
II.2. Intérêt biologique	73
II.3. Les benzophénones à l'état naturel.....	75
II.4. Les benzophénones en chimie pharmaceutique	76
II.5. Les benzophénones à activité anticancéreuse	77
II.6. Travaux antérieurs sur les méthodes de synthèse des dérivés de benzophénones	79
III. Conclusion	87
I. Introduction	88
II.1. Rappels bibliographiques sur les benzopyran-4-ones	89
II.1.1. Le motif 4 <i>H</i> -Benzopyran-4-one	89
II.1.2. Intérêt biologique.....	89
II.1.3. Les benzopyran-4-ones en chimie pharmaceutique.....	90
II.1.4. Préparation des précurseurs benzopyran-4-ones	90
II.1.5. Synthèse d'une nouvelle série de structure benzophénone	91
II.1.5. 1. Etude méthodologique	91
II.1.5. 2. Synthèse des dérivés benzophénones 164a-e	93
II.1.5. 3. Déterminations structurales et discussion sur le mécanisme réactionnel des benzophénones 164a-e	94
II.1.5. 3. 1. Caractérisation en spectrométrie de masse des composés 164a-e	94
II. 1. 5. 3. 2. Etude par spectroscopie de RMN ¹ H, RMN ¹³ C, HSQC, HMBC et NOESY des composés 164a-e :	94
II. 1. 5. 3. 3. Etude cristallographique	96
II. 1. 5. 3. 4. Mécanisme réactionnel	99

III. Conclusion	100
I. Procédé général de la synthèse des produits 164a-e	102
4'-(2"-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxybenzophénone (164a).....	102
4'-(5"-chloro-2"-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxybenzophénone (164b):.....	103
4'-(2"-hydroxyphényl)-3'-nitro-5-chloro-2-hydroxybenzophénone (164d):.....	104
4'-(5"-chloro-2"-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxy-5-méthylbenzophénone (164e):	105
I. Introduction	106
II. Etude bibliographique.....	107
II.1. Origine du mot "cancer"	107
II.2. Définition	107
II.3. Typologie	108
II.4. Etiologie du cancer	108
II.5. Diagnostic et Traitements	109
II.6. Cancer du sein	109
II.7. Cancer de la prostate.....	110
II.8. Le cycle cellulaire.....	110
II.9. Les lignées cellulaires cancéreuses	111
III.1. Matériel et méthodes	112
III.1.1. Culture de cellules.....	112
III.1.2. Mise en culture des cellules	112
III.1.3. Réactif et composés testés	112
III.1.4. Détermination de la viabilité cellulaire	112
III.1.4.1. Le principe	112
III.1.4.2. Protocole expérimental	113
III.2. Résultats et discussions	113
III.3. Relation structure-activité (SAR).....	115
III.4. Effet cytostatique et cytotoxique du composé 164e	116
III.5. Analyse de la distribution du cycle cellulaire	120
III.6. Analyse d'immunofluorescence	120
I. Introduction.....	122
II. Stress oxydant.....	122
II.1. Radicaux libres	123
II.2. Formes des radicaux libres.....	123
II.3. Le stress oxydant	124
II.4. Les antioxydants.....	124

II.5. Les dérivés pyrazoliques à activité antioxydante	125
II.6. Activité antioxydante :	126
II.6.1. Différents tests d'activité antioxydante in vitro	126
II.6.1.1. Test par capture du radical DPPH	127
II.6.1.2. Test à l'ABTS.....	127
II.6.1.3. Test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique (NO•).....	128
II.6.1.4. Le piégeage du radical superoxyde (O ₂ • ⁻).....	128
II.7. Évaluation de l'aptitude du composé à piéger des radicaux libres.....	129
II.7.1.1. Préparation des solutions	129
II.7.1.2. Mode opératoire.....	129
II.7.2.1. Préparation des solutions	130
II.7.2.2. Mode opératoire.....	130
II.7.3. Protocole expérimental du test NO•	130
II.7.3.1. Préparation des solutions :	131
II.7.3.2. Mode opératoire.....	131
II.7.4. Protocole expérimental du test O ₂ • ⁻	132
II.7.4.1. Préparation des solutions	132
II.7.4.2. Mode opératoire.....	132
II.8. Discussion des résultats	132
II.8.1. Pourcentage d'inhibition	133
II.8.2. Concentration Minimale Inhibitrice IC ₅₀	135
III. Conclusion.....	136
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	138

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Les isomères de la pyrazolone.....	6
Figure 2. Médicaments de la classe des pyrazolones.	8
Figure 3. Médicaments possédant les motifs pyrazoloprimidinones/pyrazolopyridnones.	14
Figure 4. Sites actifs du motif 2-cyanoacétohydrazide.....	27
Figure 5. Résumé de divers composés hétérocycliques synthétisés à l'aide du cyanoacétohydrazide.	28
Figure 6. Spectre RMN ¹ H du dérivé 110b	37
Figure 7. Caractéristiques spectrales RMN ¹³ C du dérivé 110b	39
Figure 8. Connectivités HMBC du composé 110b	39
Figure 9. Présentation ORTEP du composé 110e	41
Figure 10. Spectre RMN ¹ H du dérivé 111b	48
Figure 11. Spectre RMN ¹ H du dérivé 111d	49
Figure 12. Spectre HSQC du composé 111b	51
Figure 13. Spectre HSQC du composé 111d	52
Figure 14. Principales corrélations HMBC des composés 111b et 111d	53
Figure 15. présentation ORTEP du composé 111b	54
Figure 16. Présentation ORTEP du composé 111d	54
Figure 17. Le motif benzophénone.....	73
Figure 18. Exemples représentatifs de phénomènes naturels benzophénones.	76
Figure 19. Exemples représentatifs de médicaments à base de benzophénone.	77
Figure 20. Structure des benzophénones synthétiques et naturelles à activité anticancéreuse.	79
Figure 21. Le motif benzopyran-4-one ou γ -Benzopyrone.....	89
Figure 22. Spectre RMN ¹ H du dérivé 164a	95
Figure 23. Les principales corrélations HMBC observées dans le spectre RMN 2D du composé 164a	96
Figure 24. Principaux effets NOE observés dans les spectres NOESY du composé 164a	96
Figure 25. Représentation schématique de l'unité moléculaire présentée dans 164a	97
Figure 26. Représentation schématique du dimère supramoléculaire de deux unités moléculaires 164a individuelles.....	98
Figure 27. Représentation schématique de l'empilement cristallin du composé 164a	98

Figure 28. Les différentes phases du cycle cellulaire.	111
Figure 29. Effets du traitement à la benzophénone 164a-e sur la viabilité des cellules cancéreuses.....	115
Figure 30. Effet du composé 164e sur le cycle cellulaire.....	117
Figure 31. Images représentatives des noyaux de cellules MDA-MB-231 (bleu) après incubation avec du DMSO (contrôle) ou du composé 169e à 26,49 uM (valeur IC ₅₀) pendant 24 ou 48 h.....	118
Figure 32. Effets du composé 164e sur la lignée cellulaire PC3. Progression du cycle cellulaire de PC3 traité avec une concentration équitoxique (IC ₅₀), ou DMSO (contrôle) pendant 24 et 48 h.....	118
Figure 33. Images représentatives de la coloration Ki67 après 48 h d'incubation avec le composé 169e (noyaux en bleu; Ki67 en rouge).....	118
Figure 34. Les dérivés pyrazoliques à activité antioxydante.	126
Figure 35. Structure du DPPH• et sa réduction par l'antioxydant AH.....	127
Figure 36. Formation et piégeage du radical ABTS• ⁺ par un antioxydant donneur de H.	128
Figure 37. Pourcentage d'inhibition de la DPPH• en fonction des concentrations de 108a-e , 111a-c , 111d-e et du standard acide ascorbique.	134
Figure 38. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS• ⁺ en fonction des concentrations de 108a-e , 111a-c , 111d-e et du standard acide ascorbique.....	134
Figure 39. Représentation graphique du pourcentage d'inhibition des radicaux O ₂ • ⁻ des composés synthétisés à 2 mM et à 0,1 mM pour l'acide gallique standard.	135
Figure 40. Représentation graphique des valeurs d'IC ₅₀ des composés testés et du standard Acide scorbique pour le test(NO•).	136

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Synthèse des pyrazolopyridinones 110a-k à reflux d'acide acétique en présence d'acétate d'ammonium.....	34
Tableau 2. Les données de la HRMS-ESI ⁺ des composés 110a-k	36
Tableau 3. Résultats des spectres RMN ¹³ C et RMN ¹ H avec HSQC et HMBC du produit 110b	40
Tableau 4. Les données cristallographiques du composé 110e	42
Tableau 5. Les rendements et les caractéristiques physiques des dérivés des pyrazolones/pyrazolopyrimidinones 111a-c/ 111d-e	46
Tableau 6. Spectrométrie de masse en ESI ⁺ -MS des composés 111a-c/ 111d-e	47
Tableau 7. Les données cristallographiques des composés 111b et 111d	54
Tableau 8. Ensemble des réactifs employés dans la synthèse des benzophénones.	92
Tableau 9. Effet du solvant dans la synthèse des benzophénones.	92
Tableau 10. Propriétés physiques des benzophénones 164a-e	93
Tableau 11. Spectrométrie de masse des produits 164	94
Tableau 12. Evaluation de la cytotoxicité in vitro des composés 164a-e contre les lignées cellulaires du cancer du sein humain (T47-D et MDA-MB-231) et du cancer de la prostate (PC3).....	114
Tableau 13. Pourcentage d'inhibition des composés synthétisés (2mM) pour les tests DPPH [•] , ABTS ^{•+} et O ₂ ^{•-}	133
Tableau 14. Valeur d'IC ₅₀ (uM) des composés testés contre les radicaux (NO [•]).....	136

Liste des schémas

Schéma 1 : Lapremière synthèse de la pyrazolone parKnorr.....	9
Schéma 2 : Synthèse de la pyrazol-3-one au départ du3-hydrazinopropanamide et de la cyclohexanone.....	9
Schéma 3 :Synthèse du 5-chloropyrazol-3-one à partir de la 1,2-diméthyl-1-(phényléthynyl) hydrazine.....	10
Schéma 4 : Réaction de formationd'une 4-gem-diol-pyrazol-3-one par cyclisation de l'acide hydrazonopropanoïque.....	10
Schéma 5 : Synthèse des dérivés pyrazol-3-ones par le procédé de Chiste Gertraud et <i>al.</i>	11
Schéma 6 : Synthèse despyrazol-5-ones par cyclisation des cyano (fluorèn-9-yl) acétylhydrazides.....	11
Schéma 7 : Synthèse du 1-cyanoacétyl-3, 5-diméthyl pyrazole à partir de l'acide cyanoacétique hydrazide et l'acétylacétone.....	12
Schéma 8 : Préparation des dérivés pyrazolespar réaction de l'acide cyanoacétique hydrazideavec l'isocyanate.....	12
Schéma 9 : Réaction de formation du(2E) -3- (3-amino-5-oxo-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidène) -1,3-dihydro-2H-indol-2-one.....	13
Schéma 10 : Synthèse de l'inhibiteur p38 MAP kinase à base de pyrazolopyridinone.....	15
Schéma 11 : Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones selon le procédé de Shejale et <i>al.</i>	16
Schéma 12 : Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones par le procédé de Ali Tarik El-Sayed.....	17
Schéma 13 : Synthèse de pyrazolo [3,4-b] pyridineà partir de 2-chloro-5 iodonicotinonitril.....	17
Schéma 14 : Réaction de formation de pyrazolopyridinone au départ du pyrazole.....	18
Schéma 15 : Réaction " <i>one-pot</i> " de formation de nouvelles pyrazolopyridinones.....	18
Schéma 16 : Synthèsedes pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one.....	19
Schéma 17 : Synthèsedes pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one par El-Bendary et <i>al.</i>	20
Schéma 18 : Réaction de formation des pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ones.....	20
Schéma 19 : Synthèsede nouveaux 6-arylpyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-onespar El-enany et <i>al.</i>	21

Schéma 20 : Synthèse de nouveaux composés pyrazolopyrimidine et la pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-5-(4 <i>H</i>)-ol.....	22
Schéma 21 : Synthèse des pyrazolopyrimidines au départ des dérivés chalcones.....	23
Schéma 22 : Nouvelles voies d'accès aux pyrazolopyrimidines.....	24
Schéma 23 : Synthèse d'1-aryl-5-phényl-6-anilino pyrazolo [3,4- d] pyrimidin-4-ones par réaction de substitution nucléophile.....	25
Schéma 24 : Synthèse régiosélective de nouvelles pyrazolo [1, 5-a] pyrimidines substituées.....	26
Schéma 25 : Synthèse régiospécifique des pyrazolo [1,5-a] pyrimidines par réaction de type Michael.....	26
Schéma 26 : Réaction de formation d'un mélange de nouveaux pyrazolo [3,4-b] pyridin-3-ones et pyrazolo [1,5-a] pyrimidin-2 (1 <i>H</i>)-ones.....	26
Schéma 27 : Stratégie de synthèse des pyrazolopyridinones 110a-k , des pyrazolones 111a-c et des pyrazolopyrimidinones 111d-e	31
Schéma 28 : Synthèse des dérivés 2-cyano-N'-(2, 5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide 108a-e	32
Schéma 29 : Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones 110a-k	33
Schéma 30 : Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des composés pyrazolopyrimidinones 110a-k	34
Schéma 31 : Synthèse des dérivés pyrazolones 111a-c / pyrazolopyrimidinones 111d-e à partir des dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazides 108a-e	43
Schéma 32 : Mécanisme proposé pour la synthèse des pyrazolones 111a-c	44
Schéma 33 : Mécanisme proposé pour la synthèse des pyrazolopyrimidinones 111d-e	45
Schéma 34 : Différentes stratégies de synthèse des benzophénones.....	80
Schéma 35 : Synthèse du composé 4-chloro-4'(chlorodifluorométhoxy) benzophénone par réaction de Friedel-Crafts.....	81
Schéma 36 : Réaction domino "Michael-rétro-Michael-aldol" de formation des benzophénones fonctionnalisées.....	81
Schéma 37 : Synthèse en une étape de la 4-hydroxybenzophénone par estérification et réarrangement de Fries.....	82
Schéma 38 : Synthèse des éthers de benzophénone-N-éthyl morpholine substitués.....	83
Schéma 39 : Réaction en tandem à "one pot" des 2-hydroxybenzophénones fonctionnalisées.....	83
Schéma 40 : Synthèse des dérivés de la benzophénone via l'acylation de Friedel-Craft.....	84

Schéma 41 : Synthèse de nouveaux dérivés benzophénones par LiuChang et <i>al.</i>	85
Schéma 42 : Synthèse de nouveaux analogues structuraux des dérivés benzophénones par réaction de Friedel-Crafts.....	86
Schéma 43 : Synthèse de polyhydroxybenzophénone par réaction de Friedel-Crafts.....	86
Schéma 44 : Nouvelle voie de synthèse des 2-hydroxybenzophénones.....	87
Schéma 45 : Synthèse des dérivés benzopyran-4-ones 163 selon deux voies.....	88
Schéma 46 : Synthèse des précurseurs clés benzopyran-4-ones 163a-e	91
Schéma 47 : Synthèse des composés benzophénones 164a-e	93
Schéma 48 : Mécanisme de formation de benzophénones 164a-e	99

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La chimie des hétérocycles constitue un axe de recherche majeur d'une grande portée biologique et pharmacologique.¹ En effet, deux tiers des publications en chimie organique concernent de près ou de loin les hétérocycles et plus de la moitié des médicaments est basée sur des molécules hétérocycliques, notamment les hétérocycles azotés et oxygénés.² La diversité structurale et l'intérêt accordé par les chercheurs à ces hétérocycles constituent un défi et un impératif; raisons pour lesquelles la synthèse de nouvelles molécules possédant des potentialités biologiques et thérapeutiques devient cruciale.

Des travaux antérieurs réalisés au sein de notre laboratoire portant sur le développement des méthodologies de synthèse permettant d'obtenir de nouveaux hétérocycles azotés et oxygénés, au départ de matières premières très variées qui se prêtent facilement à diverses transformations chimiques, ont été menés afin d'évaluer leur activité biologique et étudier la relation-structure-activité,³ au même titre que le sujet qui m'a été confié.⁴

Parmi les hétérocycles azotés, les dérivés de la pyrazolone représentent une plateforme très utile en synthèse organique grâce au profil multi-appliqué dans de nombreux domaines, notamment le domaine thérapeutique (analgésique,⁵ anti-inflammatoire⁶ et agents antioxydants⁷).

Par ailleurs, les noyaux benzophénones entrent dans l'architecture d'un certain nombre de composés bioactifs naturels⁸ et synthétiques⁹ doués de propriétés biologiques et

¹ Pozharskii, A. F., *et al.* "Heterocycles in Life and Society: Technology, Medicine and Agriculture." (1997).

² (a) Estévez, Verónica, *et al.* "Recent advances in the synthesis of pyrroles by multicomponent reactions." *Chemical Society Reviews* 43.13 (2014): 4633-4657. (b) Dua, Rajiv, *et al.* "Pharmacological significance of synthetic heterocycles scaffold: a review." *Advances in Biological Research* 5.3 (2011): 120-144.

³ Saidi, Lydia, *et al.* "Synthesis of benzophenones and in vitro evaluation of their anticancer potential in breast and prostate cancer cells." *ChemMedChem* 14.10 (2019): 1041-1048.

⁴(a) Benaamane, N., *et al.* "Synthesis and in silico biological activity evaluation of new N-substituted pyrazolo-oxazin-2-one systems." *Bioorganic & medicinal chemistry* 16.6 (2008): 3059-3066. (b) Cherfaoui, B., *et al.* "Dibenzo [b, e][1, 4] diazepin-1-ones and their ring-opened derivatives: revisited synthesis, 2D NMR and crystal structure." *Synlett* 28.17 (2017): 2247-2252. (c) Bentarzi, Y., *et al.* "Synthesis of 2-thioxoimidazolin-4-one and thiazolo [3, 2-a]-benzimidazole derivatives from substituted maleimides." *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry* (2010). (d) Bouzroua, S., *et al.* "A convenient one pot preparation of 4-thiazolidinones from enamino-lactones." *Organic Communications* 3.1 (2010): 8.

⁵Costa, David, *et al.* "Inhibition of human neutrophil oxidative burst by pyrazolone derivatives." *Free Radical Biology and Medicine* 40.4 (2006): 632-640.

⁶Brogden, Rex N., "Pyrazolone derivatives." *Drugs* 32.4 (1986): 60-70.

⁷Parmar, Narsidas., *et al.* "Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of some 5-pyrazolone based Schiff bases." *Journal of Saudi Chemical Society* 19.1 (2015): 36-41.

⁸ (a) Dias, João P. de P., *et al.* "Marupone, a benzophenone from *Moronobea pulchra*." *Phytochemistry* 13.9 (1974): 1953-1955. (b) Rao, AV Rama., *et al.* "Xanthochymol and isoxanthochymol, 2 novel polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia-xanthochymus*." *Indian journal of chemistry section B-organic chemistry including medicinal chemistry* 19.8 (1980): 627-633. (c) Gustafson, Kirk R., *et al.* "The guttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*." *Tetrahedron* 48.46 (1992): 10093-10102. (d) Fuller, Richard W., *et al.* "Guttiferone F, the first prenylated benzophenone from *Allanblackia stuhlmannii*." *Journal of Natural Products* 62.1 (1999): 130-132. (e) Baggett,

INTRODUCTION GÉNÉRALE

pharmacologiques potentielles (antibactérienne,¹⁰ anti-inflammatoire,¹¹ anticancéreuse,¹²...) ou encore industriel,¹³ et dont la synthèse suscite un grand intérêt.

À la lumière de ces propriétés biologiques potentielles qui correspondent bien à l'objectif des travaux de cette thèse, notre activité est orientée vers la préparation de nouveaux protocoles de synthèse de diverses nouvelles séries de composés hétérocycliques (les pyrazolones, les systèmes hétérocycliques condensés à la pyrazolone et les benzophénones) et vers l'étude de leur activité en vue d'applications potentielles au niveau biologique et/ou thérapeutique. Ce travail est présenté ainsi :

Le premier chapitre, concerne la mise au point d'une méthode simple pour la synthèse des dérivés à structure pyrazoloniques au départ des cyanoacétohydrazides. Après un rappel bibliographique sur l'intérêt des différents types de composés recherchés ainsi que leurs méthodes de préparation, nous rapporterons les résultats auxquels nous sommes parvenus concernant la synthèse de ces derniers au cours de ce travail. La régiosélectivité de ces réactions a été étudiée sur la base des données de la RMN à deux dimensions et l'analyse par diffraction des rayons X (DRX).

Le second chapitre est consacré à la synthèse, à partir des benzopyran-4-ones, de nouvelles benzophénones. Nous présenterons, outre les données bibliographiques résumant l'importance pharmacologique du noyau benzophénone, les différentes voies de synthèse utilisées pour accéder au squelette benzophénone. L'interprétation des résultats et la détermination structurale des composés isolés seront détaillées.

Scott., *et al.* "Bioactive Benzophenones from *Garcinia xanthochymus* Fruits." *Journal of Natural products* 68.3 (2005): 354-360.

⁹ (a) Khanum, Shaukath A., *et al.* "Synthesis and anti-inflammatory activity of benzophenone analogues." *Bioorganic chemistry* 32.4 (2004): 211-222. (b) Hejaz, Hatem AM., *et al.* "Synthesis, in vitro and in vivo activity of benzophenone-based inhibitors of steroid sulfatase." *Bioorganic & medicinal chemistry* 12.10 (2004): 2759-2772. (c) Shaukath A., *et al.* "Benzophenone-N-ethyl piperidine ether analogues—Synthesis and efficacy as anti-inflammatory agent." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 19.7 (2009): 1887-1891. (d) Vooturi, Sunil K., *et al.* "Design, synthesis, and structure– activity relationships of benzophenone-based tetraamides as novel antibacterial agents." *Journal of medicinal chemistry* 52.16 (2009): 5020-5031.

¹⁰ Sakunpak, A., *et al.* "Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone." *Food Chemistry* 130.4 (2012): 826-831.

¹¹ Venu, T. D., *et al.* "Synthesis and crystallographic analysis of benzophenone derivatives—The potential anti-inflammatory agents." *Bioorganic & medicinal chemistry* 15.10 (2007): 3505-3514

¹² Prabhakar, B. T., *et al.* "Anti-tumor and proapoptotic effect of novel synthetic benzophenone analogues in Ehrlich ascites tumor cells." *Bioorganic & medicinal chemistry* 14.2 (2006): 435-446

¹³ Böhm, Markus., *et al.* "Exploration of novel aryl binding sites of farnesyltransferase using molecular modeling and benzophenone-based farnesyltransferase inhibitors." *Journal of medicinal chemistry* 44.19 (2001): 3117-3124.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans le troisième chapitre, qui est subdivisé en deux parties, nous exposerons l'étude préliminaire de l'activité anticancéreuse des dérivés benzophénones synthétisées, *in vitro*, sur les lignées cellulaires tumorales T47-D et MDA-MB-231 (cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate). La deuxième partie de ce chapitre, est destinée à l'évaluation des propriétés antioxydantes des dérivés pyrazoloniques synthétisés en les soumettant à quatre différentes techniques de piégeage des radicaux libres: le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), le radical acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}), le radical oxyde nitrique(NO[•]) et le radical superoxyde (O₂^{•-}).

Enfin, nous terminerons ce travail par une conclusion générale et l'énoncé de quelques perspectives.

CHAPITRE I

**Synthèse des pyrazolones,
pyrazolopyrimidinones et
pyrazolopyridinones au départ des
cyanoacétohydrazides**

Partie A

Synthèse bibliographique

I. Introduction

Les hétérocycles azotés ont suscité plus d'attention au cours des dernières décennies en raison de leur contribution significative à la chimie médicinale.¹⁴ Plus de 60% des médicaments comportent des molécules hétérocycliques à base d'azote selon les bases de données de l'administration américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA, Food and Drug Administration), qui confirment leur importance structurale dans la conception des médicaments.¹⁵

Les hétérocycles azotés incorporant le motif pyrazolone ont de vastes perspectives d'application en chimie de synthèse. L'intérêt de ce type de composés s'explique par leur profil pharmacologique favorable, notamment en tant qu'antipyrétique, analgésique, antimicrobien, anti-inflammatoire, neuroprotecteur et antitumoral. Ils sont également considérés comme des inhibiteurs d'une série d'enzymes biologiques...¹⁶ ce qui fait de ces composés une source privilégiée de nombreux sujets de recherche au laboratoire.

Par ailleurs, l'élaboration de nouveaux composés associant différents hétérocycles tels que la pyridine et la pyrimidine avec le noyau pyrazole a reçu une grande attention des chimistes depuis longtemps. Ces composés présentent une forte diversité structurale et un large éventail d'activités biologiques, parmi lesquelles l'activité analgésique, antipyrétique, antibactérienne, anti-inflammatoire, antituberculeuse... et peuvent être considérés comme promoteurs pour le développement de nouvelles drogues anticancéreuses.¹⁷

¹⁴ Pozharskii, Alexander F., *et al.* "Heterocycles in life and society: an introduction to heterocyclic chemistry, biochemistry and applications." *John Wiley & Sons* (2011).

¹⁵ Vitaku, Edon., *et al.* "Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among us FDA approved pharmaceuticals: miniperspective." *Journal of medicinal chemistry* 57.24 (2014): 10257-10274.

¹⁶(a): Küçükgülzel, Ş. Güniz., *et al.* "Recent advances in bioactive pyrazoles." *European journal of medicinal chemistry* 97 (2015): 786-815.(b): Chande, Madhukar S., *et al.* "Synthesis and antimicrobial activity of novel spirocompounds with pyrazolone and pyrazolthione moiety." *Journal of heterocyclic chemistry* 44.1 (2007): 49-53.(c): Alkhaldi, Abdulsalam AM., *et al.* "Synthesis, antimicrobial evaluation and docking studies of new pyrazolone derivatives." *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 17.11 (2018): 2235-2241.(d): Sivakumar, Kullampalayam Krishnasamy., *et al.* "Conventional and microwave assisted synthesis of pyrazolone Mannich bases possessing anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic effect and antimicrobial properties." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 24.13 (2014): 2940-2944.(e): Yoshida, Hiroshi., *et al.* "Neuroprotective effects of edaravone: a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury." *CNS drug reviews* 12.1 (2006): 9-20.(f): Brana, Miguel F., *et al.* "Synthesis and biological activity of N, N-dialkylaminoalkyl-substituted bisindolyl and diphenyl pyrazolone derivatives." *Bioorganic & medicinal chemistry* 14.1 (2006): 9-16.

¹⁷ (a): Antre, Rishikesh V., *et al.* "Microwave assisted synthesis of novel pyrazolone derivatives attached to a pyrimidine moiety and evaluation of their anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities." *Saudi pharmaceutical journal* 19.4 (2011): 233-243. (b): Foks, Henryk., *et al.* "Synthesis and antibacterial activity of 1H-pyrazolo [3, 4-b] pyrazine and-pyridine derivatives." *II FarmacoElsevier* 60.6-7 (2005): 513-517.(c): Sekikawa, Isao., *et al.* "Antituberculous compounds. XXVIII. Synthesis of pyrazolopyridines." *Journal of Heterocyclic Chemistry* 10.6 (1973): 931-932.(d): Witherington, Jason., *et al.* "5-Aryl-pyrazolo [3, 4-b] pyridines: potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3)." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13.9 (2003): 1577-1580.

Actuellement, les études existantes sur les dérivés pyrazoliques concernent principalement leur synthèse mais l'étude complète de leur bioactivité et de leur Relation-Structure-Activité (SAR) est toujours incomplète.¹⁸ De ce fait, notre travail s'inscrit dans cette problématique en proposant de nouvelles voies de synthèses rapides et innovantes pour accéder aux trois structures ciblées (pyrazolone, pyrazolopyridinone et pyrazolopyrimidinone) ayant des propriétés physico-chimiques et biologiques et surtout contribuer à trouver une relation entre la structure chimique et l'activité biologique.

II. Rappels bibliographiques sur les dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidiniques et pyrazolopyridiniques

II.1. Les dérivés pyrazolones

Le squelette pyrazolone (**Figure1**) suscite l'intérêt des chimistes organiciens tant pour leurs propriétés physico-chimiques que pour leurs propriétés biologiques. Depuis 1883, date de la synthèse de la première pyrazolone par Ludwig Knorr et qui s'est avérée être un analgésique et un antipyrétique efficace,¹⁹ des efforts considérables ont été consacrés au développement de nouvelles méthodes de synthèse permettant l'obtention d'autres dérivés de pyrazolone avec de meilleures actions thérapeutiques.^{16a,20}

II.1.1. Le motif pyrazolone

La pyrazolone est un hétérocycle insaturé à cinq chaînons comportant deux atomes d'azote adjacents et une fonction cétone. Cette structure se présente sous quatre formes isomériques : 1*H*-pyrazol-5(4*H*)-one, 1*H*-pyrazol-5-ol et 1*H*-pyrazol-5(2*H*)-one ; la numérotation dans la figure **1** est adoptée pour nommer les dérivés de la pyrazolone.

Cet hétérocycle est considéré comme un motif structural précieux en raison de son application répandue dans les domaines de la chimie de coordination et des matériaux

¹⁸(a): Casas, José S., *et al.* "Coordination modes of 5-pyrazolones: A solid-state overview." *Coordination chemistry reviews* 251.11-12 (2007): 1561-1589. (b): Xie, Xin., *et al.* "Catalytic asymmetric synthesis of spiropyrazolones and their application in medicinal chemistry." *The Chemical Record* 19.11 (2019): 2209-2235. (c): De Mello, Heloisa., *et al.* "Antileishmanial pyrazolopyridine derivatives: synthesis and structure-activity relationship analysis." *Journal of medicinal chemistry* 47.22 (2004): 5427-5432. (d): Tang, Dewei., *et al.* "Synthesis and structure-activity relationships of 5, 6, 7-substituted pyrazolopyrimidines: discovery of a novel TSPO PET ligand for cancer imaging." *Journal of medicinal chemistry* 56.8 (2013): 3429-3433.

¹⁹Knorr, Ludwig., "Einwirkung von acetessigester auf phenylhydrazin." *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 16.2 (1883): 2597-2599.

²⁰Lapchak, Paul A., "A critical assessment of edaravone acute ischemic stroke efficacy trials: is edaravone an effective neuroprotective therapy?." *Expert opinion on pharmacotherapy* 11.10 (2010): 1753-1763.

fonctionnels,²¹ plus important encore, dans le domaine de la recherche médicale, en tant qu'hétérocycles pharmacophores importants.

La pyazolone est très présente dans l'agrochimie comme composé herbicide,²² fongicide²³ et insecticide.²⁴ Par ailleurs, cette structure est particulièrement rare dans la nature.

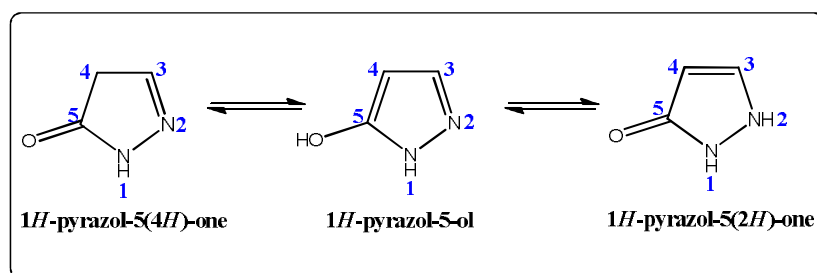


Figure 1 : Isomères de la pyrazolone

II.1.2. Intérêt biologique des pyrazolones

Ces vingt dernières années, la littérature a rapporté un grand nombre de travaux concernant l'activité biologique des composés contenant le noyau pyrazolone. Il s'est avéré que ces dérivés possédaient des activités dans des domaines variés : analgésiques, antipyrétiques,^{25,26} antimicrobiennes,²⁷ effets anti-ischémiques,^{28,29} anti-inflammatoires,²⁵ antiviraux,³⁰ antitumoral,^{31,32,33} antibactérienne,^{34,35} Anxiolytique³⁶ et anticonvulsivant.³⁷

²¹ (a) Kuznetsov, M. L., *et al.* "Ab initio study of structure, protonation and complex formation of novel pyrazolone-5 derivatives." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 571.1-3 (2001): 45-57. (b) Ayaz, Muhammad., *et al.* "Synthesis of symmetric bridged bis-pyrazolone based metal complex acid dyes and their applications on leather." *Journal of fluorescence* 28.5 (2018): 1181-1193.

²² Konotsune, Takuo., *et al.* "Pyrazolone derivatives and their use as herbicides." U.S. Patent No. 4,036,631. (1977).

²³ Nayal, S. S., *et al.* "Synthesis and Antifungal Activity of N1-Nicotinoyl-3-Methyl-4-(substituted Azo)-1, 2-Pyrazoline-5-One." *Asian Journal of Chemistry* 11.1 (1999): 207.

²⁴ Yagi, Kazuo., *et al.* "Synthesis and insecticidal activity of novel 1, 3, 4-oxadiazolin-5-one and pyrazolin-5-one derivatives." *Pesticide science* 55.2 (1999): 161-165.

²⁵ Brogden, Rex N., "Pyrazolone derivatives." *Drugs* 32.4 (1986): 60-70.

²⁶ Costa, David., *et al.* "Inhibition of human neutrophil oxidative burst by pyrazolone derivatives." *Free Radical Biology and Medicine* 40.4 (2006): 632-640.

²⁷ Castagnolo, Daniele., *et al.* "Synthesis, biological evaluation, and SAR study of novel pyrazole analogues as inhibitors of Mycobacterium tuberculosis: part 2. Synthesis of rigid pyrazolones." *Bioorganic & medicinal chemistry* 17.15 (2009): 5716-5721.

²⁸ Watanabe, Toshiaki., *et al.* "Protective effects of MCI-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 268.3 (1994): 1597-1604.

²⁹ Wu, Tai-Wing., *et al.* "Myocardial protection of MCI-186 in rabbit ischemia-reperfusion." *Life sciences* 71.19 (2002): 2249-2255.

³⁰ Sujatha, Kuppusamy., *et al.* "Synthesis and antiviral activity of 4, 4'-(arylmethylene) bis (1H-pyrazol-5-ols) against peste des petits ruminant virus (PPRV)." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 19.15 (2009): 4501-4503.

³¹ Park, Hyun-Ja., *et al.* "Identification of antitumor activity of pyrazole oxime ethers." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 15.13 (2005): 3307-3312.

Ce large panel d'activités biologiques a poussé les chercheurs à s'intéresser à ce motif. De nos jours, le cycle pyrazolone est présent dans un grand nombre de molécules à visées thérapeutiques.

II.1.3. Intérêt pharmaceutique du noyau pyrazolone

La pyrazolone est un pharmacophore important qui représente des structures intéressantes pour l'industrie pharmaceutique.³⁸ Comme il a été rapporté précédemment, la chimie de la pyrazolone a commencé en 1883, lorsque Knorr a annoncé le premier dérivé de la pyrazolone (la phénazone).¹⁹ Depuis, cet hétérocycle est pris comme noyau de base de plusieurs médicaments comme : le métamizole (développé un peu plus tard et considéré comme l'antipyrétique le plus puissant),³⁹ le propyphénazone (agent antipyrétique et analgésique),⁴⁰ l'ampyrone (analgésique, anti-inflammatoire et antipyrétique),⁴¹ le célécoxib (agent analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire),⁴² le telin (anticancéreux),⁴³ l'édaravone (anti-ischémique)⁴⁴ et la muzolimine (agent antihypertenseur).⁴⁵ (**Figure 2**).

³²Tripathy, Rabindranath., *et al.* "Structure-guided identification of novel VEGFR-2 kinase inhibitors via solution phase parallel synthesis." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 16.8 (2006): 2158-2162.

³³Casas, José S., *et al.* "New Pd (II) and Pt (II) complexes with N, S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminary study of their in vitro antitumoral activity." *Journal of inorganic biochemistry* 102.1 (2008): 33-45.

³⁴ Liu, Shen., *et al.* "Synthesis and characterization of cationic monoazo dyes incorporating quaternary ammonium salts." *Dyes and pigments* 75.2 (2007): 255-262.

³⁵ Bondock, Samir., *et al.* "Synthesis and antimicrobial activity of some new heterocycles incorporating antipyrine moiety." *European journal of medicinal chemistry* 43.10 (2008): 2122-2129.

³⁶Geronikaki, Athina., *et al.* "Design, synthesis, computational and biological evaluation of new anxiolytics." *Bioorganic & medicinal chemistry* 12.24 (2004): 6559-6568.

³⁷Abdel-Aziz, Mohamed., *et al.* "Synthesis of novel pyrazole derivatives and evaluation of their antidepressant and anticonvulsant activities." *European journal of medicinal chemistry* 44.9 (2009): 3480-3487.

³⁸Gupta, Shiv K., *et al.* "In vitro micropropagation of *Lippia alba*." *CURRENT SCIENCE-BANGALORE*- 81.2 (2001): 206-209.

³⁹ Brayfield, Alison., "Martindale: The Complete Drug Reference, Pharmaceutical Press." *United Kingdom* (2014).

⁴⁰Himly, Martin., *et al.* "IgE-mediated immediate-type hypersensitivity to the pyrazolone drug propyphenazone." *Journal of allergy and clinical immunology* 111.4 (2003): 882-888.

⁴¹ Akhmadiev, Nail S., *et al.* "Green synthesis of new sulfanyl derivatives of ampyrone and prediction of their anti-inflammatory activity." *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 56.4 (2020): 473-481.

⁴²Antoniou, Katerina., *et al.* "Clinical pharmacology of celecoxib, a COX-2 selective inhibitor." *Expert opinion on pharmacotherapy* 8.11 (2007): 1719-1732.

⁴³Kakiuchi, Yasutaka., *et al.* "A novel pyrazolone, 4, 4-dichloro-1-(2, 4-dichlorophenyl)-3-methyl-5-pyrazolone, as a potent catalytic inhibitor of human telomerase." *Biochemical and biophysical research communications* 320.4 (2004): 1351-1358.

⁴⁴Wu, Tai-Wing., *et al.* "Myocardial protection of MCI-186 in rabbit ischemia-reperfusion." *Life sciences* 71.19 (2002): 2249-2255.

⁴⁵Wangemann, Ph., *et al.* "The diuretic effect of muzolimine." *Pflügers Archiv* 410.6 (1987): 674-676.

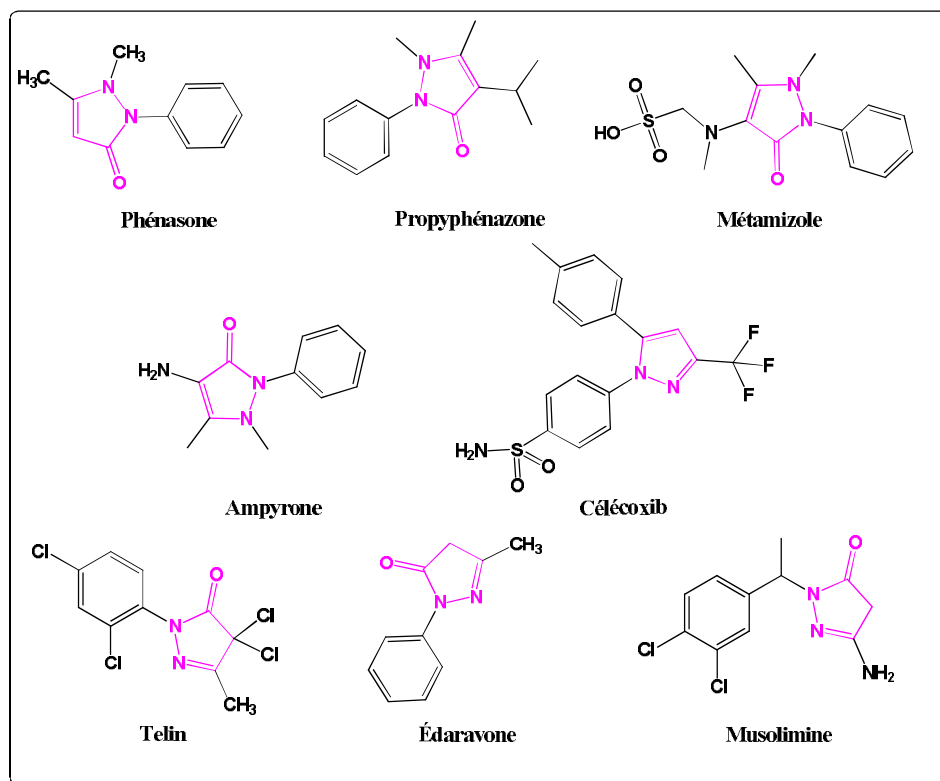


Figure 2 : Médicaments de la classe des pyrazolones

II.1.4. Méthodes de synthèse des noyaux pyrazolones

L'intérêt des pyrazolones en chimie médicinale a stimulé le développement de différentes méthodes de préparation de ce noyau. De nombreuses recherches ont été consacrées à l'étude de ces composés dont les rendements dépendent essentiellement du choix des conditions opératoires et par conséquent leur optimisation est devenue un véritable challenge pour les pharmaco-chimistes. Nous avons choisi de présenter ici de manière non exhaustive quelques méthodes de préparation de tels hétérocycles.

La première synthèse de pyrazolone a été rapportée en 1883 par Knorr par cyclocondensation d'un β -céto ester **1** avec l'hydrazine hydratée ou l'hydrazine monosubstituée **2** où les groupes R sont des alkyles ou des aryles. Le composé **3** obtenu est l'un des premiers médicaments analgésiques et antipyrétiques qui a été commercialisé (**Schéma 1**).^{19,46}

⁴⁶Knorr, L., "Einwirkung von acetessigester auf hydrazinchininderivate." *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 17.1 (1884): 546-552.

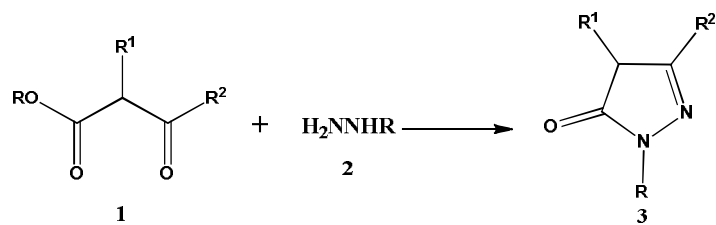


Schéma 1 : Première synthèse de la pyrazolone par Knorr

Le chauffage du 3-hydrazinopropanamide **4** avec la cyclohexanone **5** a donné de l'hydrazone **6** qui a été hydrogénée en présence du catalyseur d'Adams à 120 °C et à 200 atm pour donner, via l'intermédiaire **7**, de la 2-cyclohexylpyrazolidine-3-one **8**. Le traitement du composé **8** avec du chlorure de tosylo (TsCl) dans la pyridine puis désosylation du dérivé 1-tosyle résultant en présence d'hydru de sodium a donné la pyrazol-3-one **9** (Schéma 2).⁴⁷

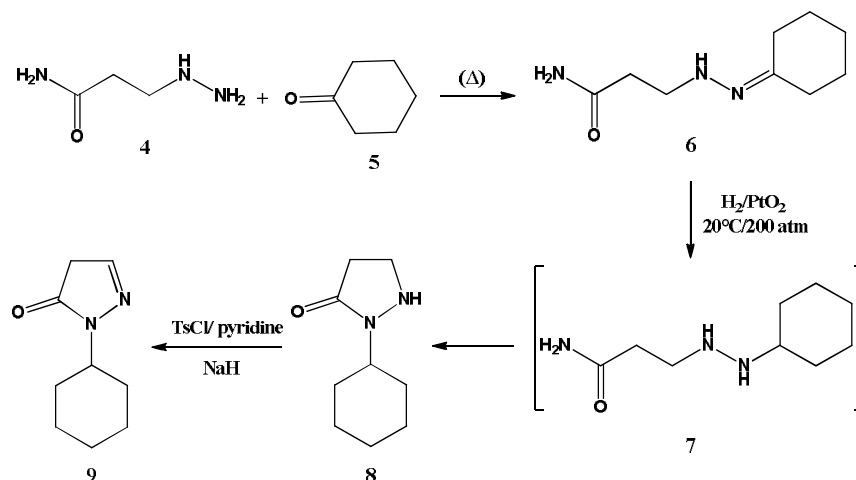


Schéma 2 : Synthèse de la pyrazol-3-one au départ du 3-hydrazinopropanamide et de la cyclohexanone

Croutte *et al.* ont fait réagir la 1,2-diméthyl-1-(phényléthynyl) hydrazine **10** avec du phosgène pour obtenir, après déchlorométhylation, du 5-chloropyrazol-3-one **11** avec un rendement de 71% (Schéma 3).⁴⁸

⁴⁷Dorn, H., *et al.* "Synthese von 3 (5)-Pyrazolon und 1-substituierten 5-Pyrazolonen." *Angewandte Chemie* 78.13 (1966): 676-676.

⁴⁸ De Croutte, H.; *et al.* *Bull.Soc. Chem. Fr.* (1990), 127, 745.

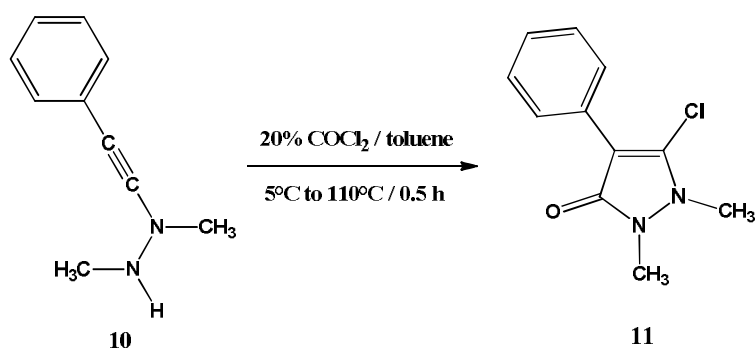


Schéma 3 : Synthèse du 5-chloropyrazol-3-one à partir de la 1,2-diméthyl-1-(phényléthynyl)hydrazine

Neugebauer et Fischer ont rapporté la préparation d'une 4-gem-diol-pyrazol-3-one stable. La cyclisation de l'acide hydrazonopropanoïque **12** avec du chlorure de zinc en tant que catalyseur a donné le 4,4-dihydroxypyrazol-3-one **13** (Schéma 4).⁴⁹

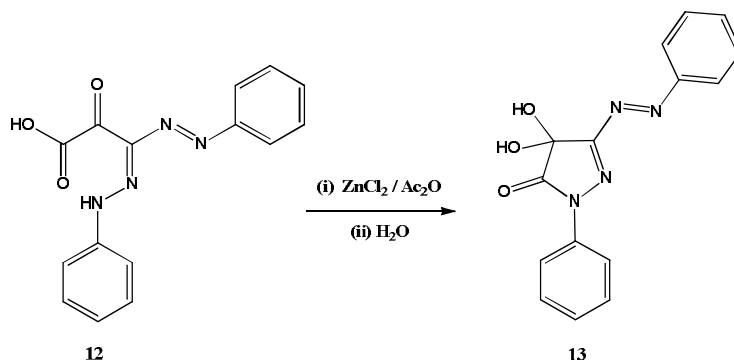


Schéma 4 : Réaction de formation d'une 4-gem-diol-pyrazol-3-one par cyclisation de l'acide hydrazonopropanoïque

Le motif pyrazol-3-one **15** peut être construit à partir du N'-phénylbenzothiohydrazide **14** et l'anhydride acétique en présence d'une base hétérocyclique. Alors que les N, N'-diarylhydrazines **16** ont donné un mélange des pyrazol-3-ones **19a-e** et **20a-e**. L'intermédiaire hydrazide **17** peut être cyclocondensé directement en produit **20** ou bien passé par l'intermédiaire acétylé **18** qui cyclise en **19** via une condensation aldolique interne suivie d'une déshydratation subséquente (Schéma 5).⁵⁰

⁴⁹Neugebauer, Franz A., *et al.* "Das gelbe Isomere der (1, 5-Diphenylformazanil) glyoxylsäure." *Chemische Berichte* 112.4 (1979): 1477-1479.

⁵⁰Chiste, Gertraud., *et al.* "Reaction of 1, 2-diarylhydrazines with acetic anhydride catalyzed by 4-(dimethylamino) pyridine." *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly* 122.6-7 (1991): 537-544.

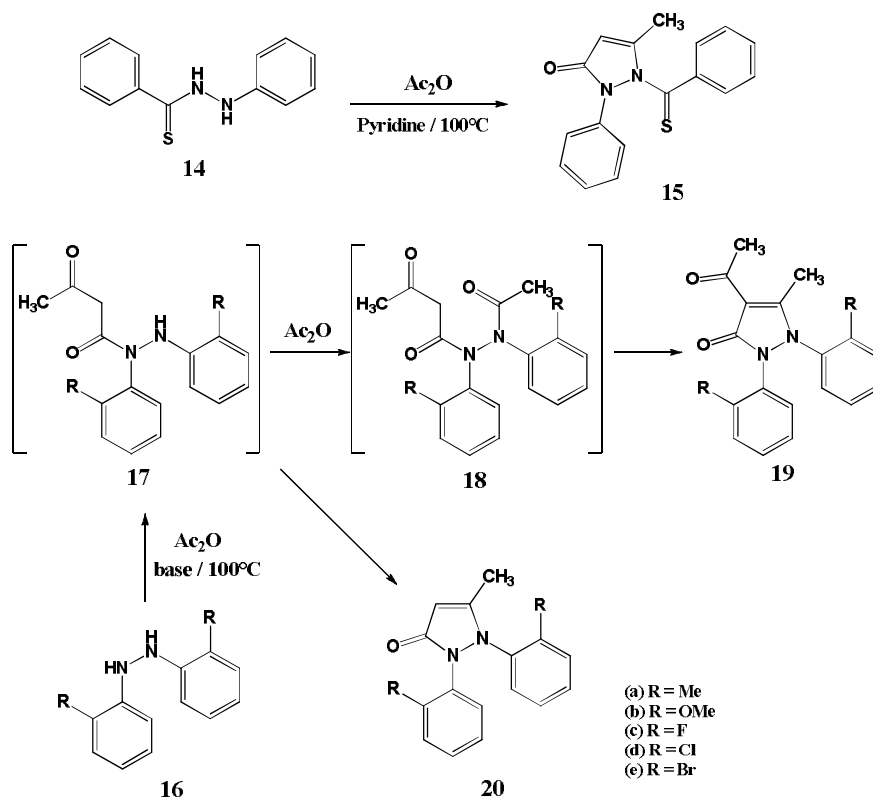


Schéma 5 : Synthèse des dérivés pyrazol-3-ones par le procédé de Chiste Gertraud *et al*

L'introduction d'un groupe amino en position 3 d'une pyrazol-5-one peut être obtenue par cyclisation induite par une base de cyanoacétohydrazide. Latif *et al.* ont rapporté la cyclisation des cyano (fluorèn-9-yl) acétylhydrazides correspondants **21a-e**, en présence de méthalonate de sodium (NaOCH₃), en 3-amino-4-(fluorèn-9-yl)pyrazol-5(4*H*)-ones **22a-e** avec de bons rendement (Schéma 6).⁵¹

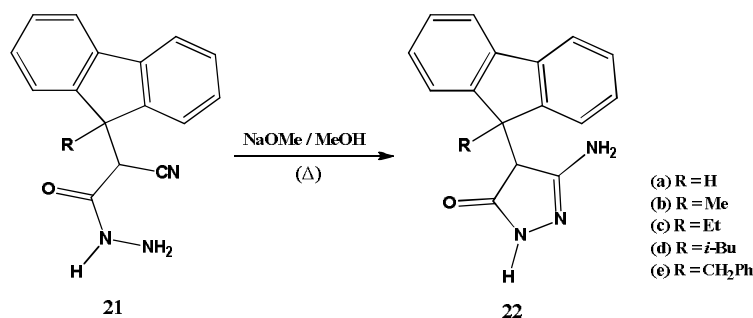


Schéma 6 : Synthèse des pyrazol-5-ones par cyclisation des cyano (fluorèn-9-yl) acétylhydrazides

⁵¹Latif, Nazih., *et al.* "Cyano esters and malononitriles.IV. Cyano (fluorenyl) acetohydrazides and fluorenylpyrazolones." *Australian Journal of Chemistry* 30.10 (1977): 2255-2262.

CHAPITRE I / Partie A : Synthèse bibliographique

Le traitement de l'acide cyanoacétique hydrazide **23** dans l'eau contenant une quantité catalytique d'acide chlorhydrique concentré, avec l'acétylacétone **24** à température ambiante, a donné le 1-cyanoacétyl-3,5-diméthyl pyrazole **25** (Schéma 7).⁵²

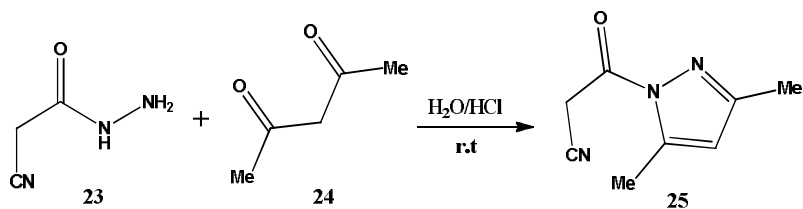


Schéma 7 : Synthèse du 1-cyanoacétyl-3, 5-diméthyl pyrazole à partir de l'acide cyanoacétique hydrazide et l'acétylacétone

La réaction de l'acide cyanoacétique hydrazide **23** avec l'isocyanate d'alkyle conduit à un dérivé d'alkylcarbamoyle **26** qui cyclise ensuite en un dérivé de structure pyrazole **27** lors d'un traitement à l'hydroxyde de sodium (Schéma 8).⁵³

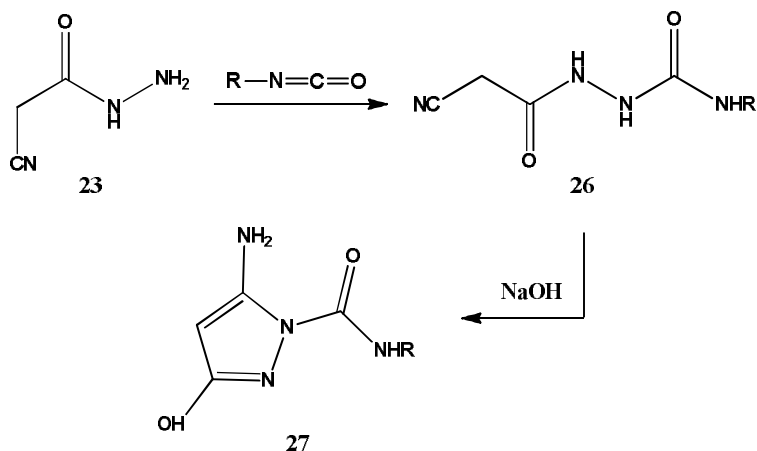


Schéma 8 : Préparation des dérivés pyrazoles par réaction de l'acide cyanoacétique hydrazide avec l'isocyanate

La réaction de l'acide cyanoacétique hydrazide **23** avec de l'isatine **28** dans de l'éthanol contenant une quantité catalytique de triéthylamine sous reflux a fourni le (2E)-3-(3-amino-5-oxo-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidène)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one **29** (Schéma 9).⁵⁴

⁵² Gorobets, Nikolay Yu., *et al.* "Rapid microwave-assisted solution phase synthesis of substituted 2-pyridone libraries." *Tetrahedron* 60.39 (2004): 8633-8644.

⁵³ Drummond, James T., *et al.* "Selective method for the preparation of isomeric N-alkyl and N-aryl-3 (5) - amino-5 (3)-hydroxy-1H-pyrazole-1-carboxamides." *Journal of heterocyclic chemistry* 25.4 (1988): 1123-1127.

⁵⁴ Mohammed, Y. S., *et al.* *J. Pharm. Sci.* (1988), 29, 419; *Chem. Abstr.* (1989), 110, 231374

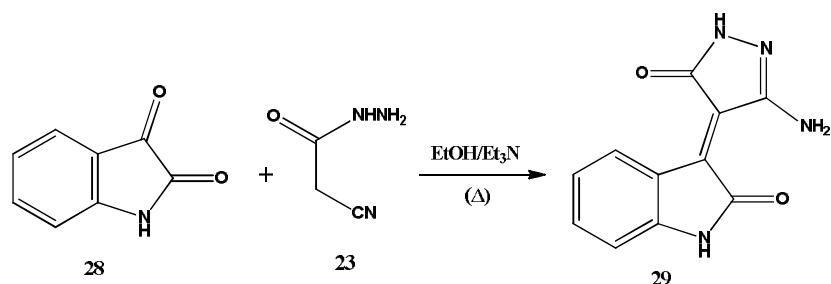


Schéma 9 : Réaction de formation du (2E) -3- (3-amino-5-oxo-1,5-dihydro-4H-pyrazol-4-ylidène) -1,3-dihydro-2H-indol-2-one

II.2. Les dérivés pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones

Il existe de très nombreux motifs où la structure qui nous intéresse, la pyrazolone, est fusionnée avec d'autres noyaux hétérocycliques comme les pyrazolopyridinones et les pyrazolopyrimidinones dont le noyau pyrazole est condensé respectivement à une pyridinone et une pyrimidinone. Dans ce qui suit nous étudierons la synthèse de ces derniers ainsi que leur utilisation.

II.2.1. Intérêt biologique et pharmaceutique des pyrazolopyridinones et des pyrazolopyrimidinones

La chimie des systèmes hétérocycles condensés à la pyrazolone a fait l'objet d'une attention particulière, notamment les pyrazolo-pyrimidinones et les pyrazolo-pyridinones, qui sont des matrices structurales importantes en tant qu'outils de synthèse dans la conception de diverses molécules bioactives, parmi lesquelles l'ocinaplon (anxiolytique), l'indiplon (sédatif hypnotique), le cartazolate (modulateur allostérique positif pour le récepteur GABA de type A), le glicaramide (antidiabétique) (**Figure 3**). Ces composés sont associés à un large éventail d'activités biologiques telles que des propriétés antivirales,⁵⁵ antitumorales,⁵⁶ antalgiques,⁵⁷ antimicrobiennes,^{58,59,60} antiproliférants⁶¹ et anti-inflammatoires.⁶²

⁵⁵ El-Bendary, E. R., *et al.* "Synthesis, DNA-binding, and Antiviral Activity of Certain Pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine Derivatives." *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry* 333.4 (2000): 99-103.

⁵⁶ Antonelli, Alessandro, *et al.* "Novel pyrazolopyrimidine derivatives as tyrosine kinase inhibitors with antitumoral activity in vitro and in vivo in papillary dedifferentiated thyroid cancer." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96.2 (2011): E288-E296.

⁵⁷ Shejale, Savita R., *et al.* "Synthesis, characterization and evaluation of antitubercular and analgesic activity of some novel pyrazolopyrimidine and pyrazolopyridine derivatives." *Der. Pharma. Chemica* 6.2 (2014): 75-82.

⁵⁸ Allam, Muralidhar, *et al.* "The new green procedure for pyrazolopyrimidinone based dihydropyrimidinones and their antibacterial screening." *Russian Journal of General Chemistry* 87.11 (2017): 2712-2718.

⁵⁹ Rahmouni, Ameer, *et al.* "Synthesis of new pyrazole and antibacterial pyrazolopyrimidine derivatives." *Turkish Journal of Chemistry* 38.2 (2014): 210-221.

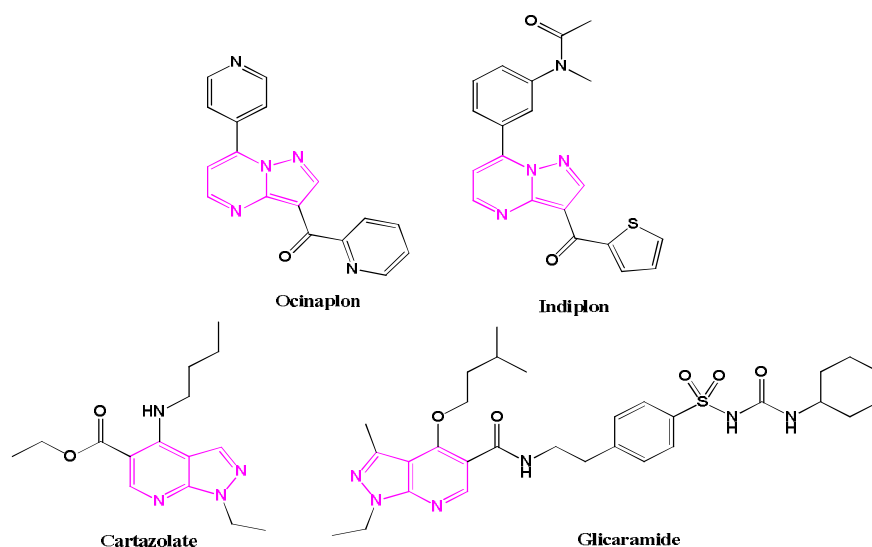


Figure 3 : Médicaments possédant les motifs pyrazolopyrimidinones/pyrazolopyridinones

II.2.2. Méthodes de synthèse des dérivés pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones

De nombreux travaux décrivant la synthèse des dérivés pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones ont été publiés au cours de ces dernières décennies et certains de ces composés sont aujourd'hui commercialisés pour le traitement de diverses maladies. Cependant, nous avons sélectionné dans la littérature quelques approches synthétiques intéressantes illustrant la synthèse des structures ciblées.

II.2.2.1. Les principales méthodes d'accès aux pyrazolopyridinones

Le premier exemple, tiré d'une publication de Milburn *et al.*, fait état de la synthèse quantitative de l'inhibiteur p38 MAP kinase à base de pyrazolopyridinone **37** à partir d'arylhdyrazine **30** et 2-éthoxyméthylène malononitrile **31** *via* une réaction multi-étape (Schéma 10).⁶³

⁶⁰ Ali, Tarik El-Sayed. "Synthesis of some novel pyrazolo [3, 4-b] pyridine and pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine derivatives bearing 5, 6-diphenyl-1, 2, 4-triazine moiety as potential antimicrobial agents." *European journal of medicinal chemistry* 44.11 (2009): 4385-4392.

⁶¹Gopalsamy, Ariamala., *et al.* "Pyrazolo [1, 5-a] pyrimidin-7-yl phenyl amides as novel anti-proliferative agents: parallel synthesis for lead optimization of amide region." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 15.6 (2005): 1591-1594.

⁶² Yewale, Sandeep B., *et al.* "Novel 3-substituted-1-aryl-5-phenyl-6-anilinyopyrazolo [3, 4-d] pyrimidin-4-ones: docking, synthesis and pharmacological evaluation as a potential anti-inflammatory agents." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 22.21 (2012): 6616-6620.

⁶³Milburn, Robert R., *et al.* "Development of a Practical Synthesis of a Pyrazolopyridinone-Based p38 MAP Kinase Inhibitor." *Organic Process Research & Development* 15.1 (2011): 31-43.

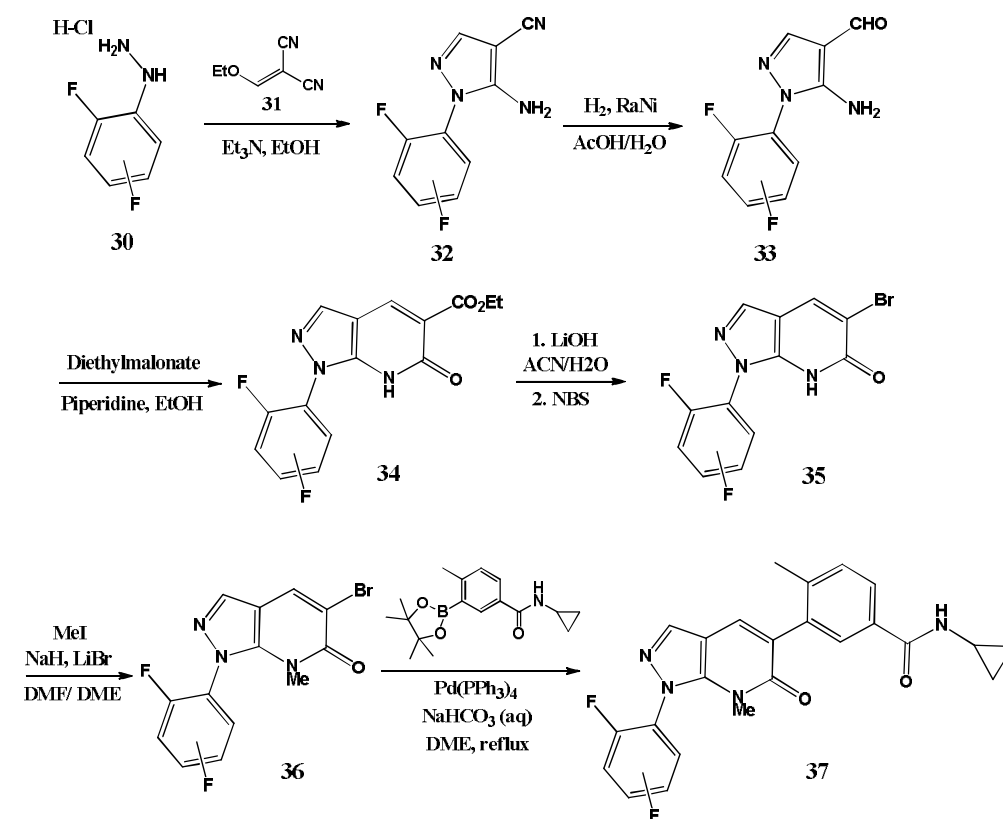


Schéma 10 : Synthèse de l'inhibiteur p38 MAP kinase à base de pyrazolopyridinone

Les systèmes cycliques condensés souhaités **44** et **46** ont été synthétisés, par Shejale et *al.*,⁵⁷ respectivement par réaction de (1-phényl-3-(phényl substitué)-1*H*-pyrazol-4-yl)-3-phényl-1-propène-3-one **42** avec un mélange de cyanoacétate d'éthyl **43** et acétate d'ammonium et avec 2-cyanothioacétamide **45**, ce qui donne accès aux motifs pyrazolopyridiniques **44** et **46**. Les dérivés pyrazolopyridiniques obtenus ont été dépistés pour l'activité analgésique et antituberculeuse (**Schéma 11**).

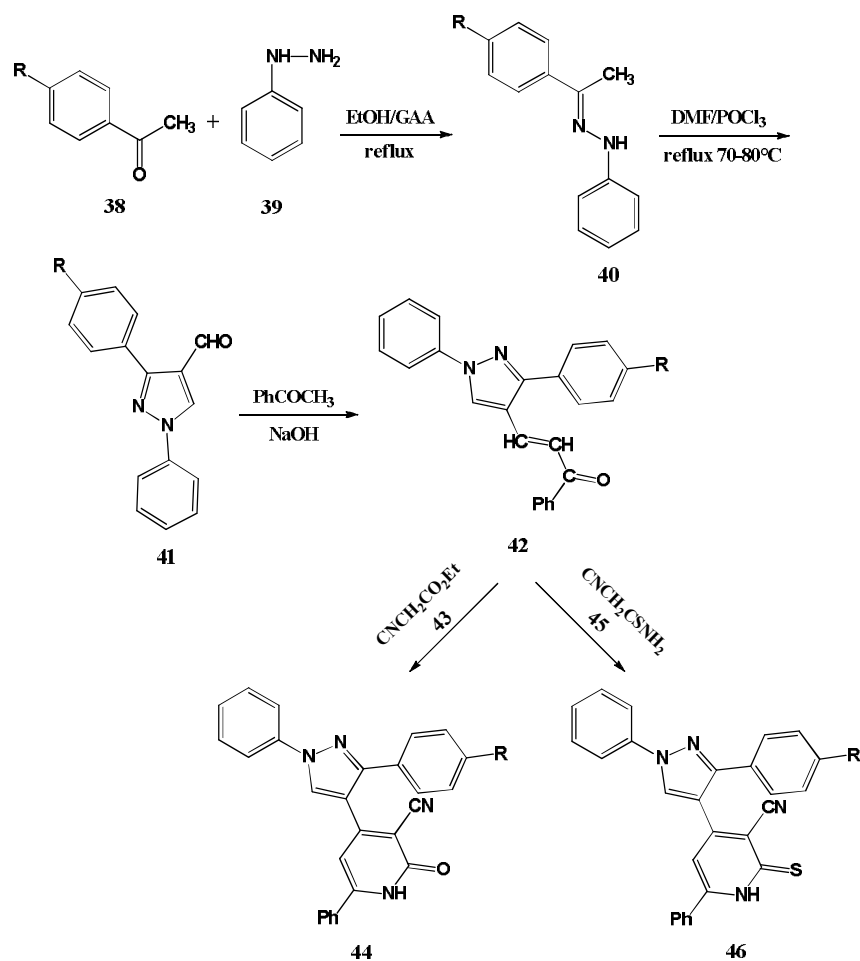


Schéma 11: Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones selon le procédé de Shejale et *al*

Ali, Tarik El-Sayed.⁶⁰ a développé une voie de synthèse aux dérivés pyrazolopyridiniques à partir du précurseur 5-amino-1-(5,6-diphényl-1, 2,4-triazin-3-yl)-3-(méthylthio)-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile **49** obtenu lors de la réaction de 5,6-diphényl-3-hydrazino-1,2,4-triazine **47** avec le bis (méthylthio) méthylène malononitrile **48**. En partant du précurseur **49** et de la benzoyl-acétone **50**, il est possible d'accéder au pyrazolo [3,4-*b*] pyridine **51** qui à son tour a pu réagir avec le malononitrile pour obtenir le système hétérocyclique **52**. L'interaction de **49** avec la cyanoacétone a donné la pyrazolo [3,4-*b*] pyridine **53**. Tous ces produits se distinguent par leurs activités antibactériennes et antifongiques (**Schéma 12**).

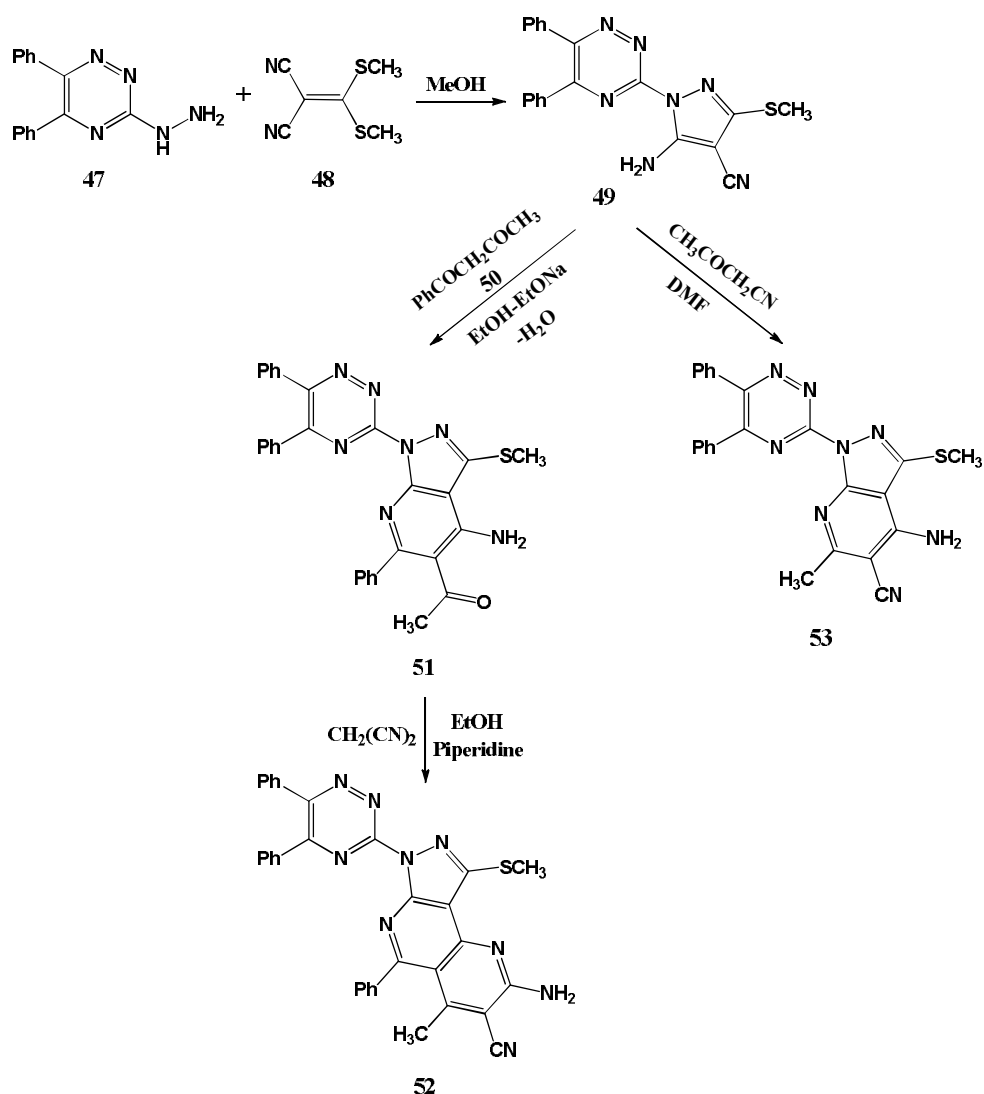


Schéma 12 : Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones par le procédé d'Ali Tarik El-Sayed

G. Lavecchia *et al.*,⁶⁴ ont synthétisé la 1-méthyl-3-amino-5-iodopyrazolo [3,4-b] pyridine **55** au moyen de réactions faciles et efficaces à partir de 2-chloro-5 iodonicotinonitrile **54** et de la méthylhydrazine (Schéma 13).

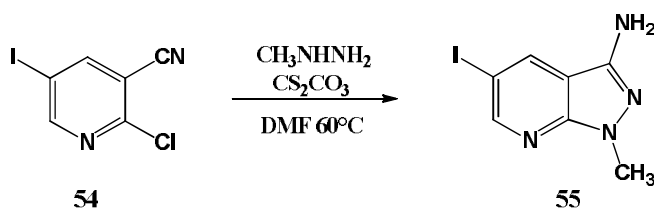


Schéma 13 : Synthèse de pyrazolo [3,4-b] pyridine à partir de 2-chloro-5 iodonicotinonitrile

⁶⁴Lavecchia, G., *et al.* "Synthesis of 3, 5-difunctionalized 1-methyl-1H-pyrazolo [3, 4-b] pyridines involving palladium-mediated coupling reactions." *Tetrahedron letters* 45.35 (2004): 6633-6636.

L'exemple suivant est tiré des travaux de Salah Fadel *et al.*,⁶⁵ faisant état de la synthèse d'un certain nombre de pyrazolopyridinones. L'addition du pyrazole **56** sur l'isodéshydracétate d'éthyle **57** leur a permis d'accéder au pyrazolopyridinone **58** désirée. Plusieurs conditions de réaction ont été soigneusement étudiées (**Schéma 14**).

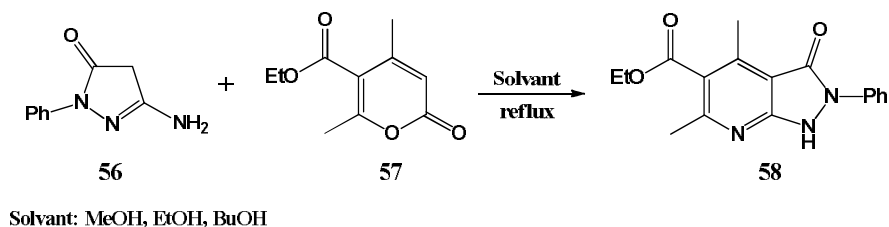


Schéma 14 : Réaction de formation de pyrazolopyridinone au départ du pyrazole

La synthèse des imidazopyridines fusionnées à la pyrazolopyridinone **62** a été réalisée à partir de 4-formyl-1*H*-pyrazole-3-carboxylates **59**, de pyridin-2-amines **60** et de pivalonitrile **61** (**Schéma 15**). Les molécules souhaitées ont été obtenus via une stratégie en tandem à un pot assistée par le Trifluorométhanesulfonate d'indium (III) (In(OTf)₃), soumis ensuite à une désalkylation induite par l'acide tétrafluoroborique (HBF₄) in situ et condensation intramoléculaire en tandem. Tous les produits ont été obtenus avec d'excellents rendements (89 à 99%). L'objectif de cette étude, effectuée par N. Devi *et al.*,⁶⁶ impliquait l'évaluation de nouveaux produits d'imidazopyridines fusionnées en tant qu'agents antimicrobiens.

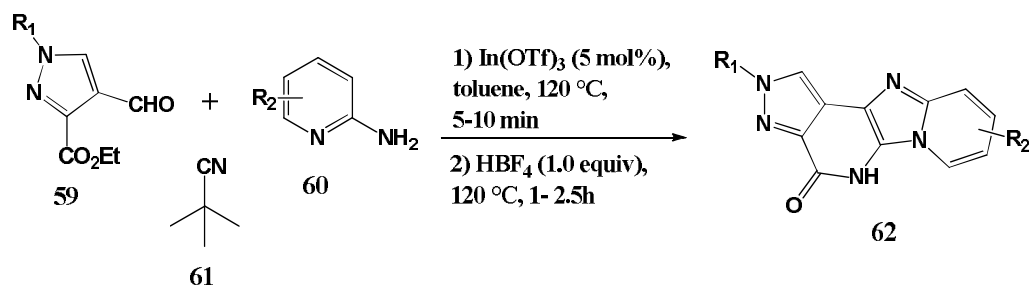


Schéma 15 : Réaction "one-pot" de formation de nouvelles pyrazolopyridinones

II.2.2.2. Les principales méthodes d'accès aux pyrazolopyrimidinones

Le traitement du composé **63** avec du phényle isothiocyanate a donné le 5-(phénylthiourido)-1-phénylpyrazole-4-carboxylate d'éthyle **64**, qui a ensuite été cyclisé dans le diimide pur (N₂H₂) pour produire le composé ciblé 5-amino-4,5-dihydro-1-phényl-6-

⁶⁵Salah, Fadel., *et al.* "Synthesis of new pyrazolo [3, 4-b] pyridin-3-ones and pyrazolo [1, 5-a] pyrimidin-2 (1H)-one and study of the pyrazolic nitrogen reactivity." *Arkivoc* 2 (2011): 240-251.

⁶⁶Devi, Nisha., *et al.* "Assessment of novel pyrazolopyridinone fused imidazopyridines as potential antimicrobial agents." *Karbala International Journal of Modern Science* 4.1 (2018): 164-170.

phénylamino-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one **65** avec un rendement de 47%. La réaction de **65** avec le chlorure de 2-thiophène-carbonyl **66**, en présence de triéthylamine, a donné 1-phényl-6-phénylamino-5-(2-thiénylcarboxamido) pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one **67**. En outre, la réaction du produit **65** avec le phényle isothiocyanate a donné 1-phényl-6-phénylamino-5-(N-phénylthiourido) pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one **68** (Schéma 16).⁶⁷

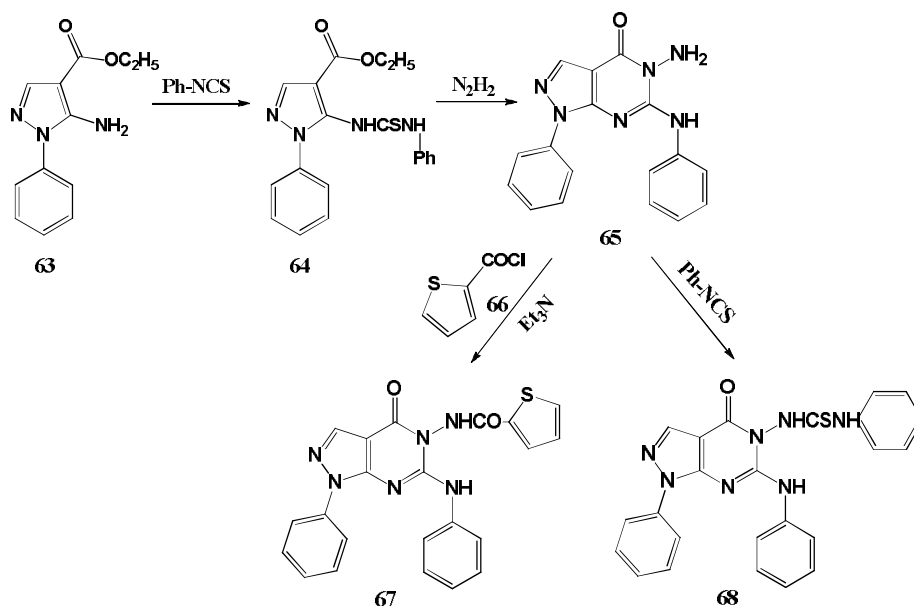


Schéma 16: Synthèse des pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one

La condensation du composé **65** avec certains aldéhydes aromatiques a donné les dérivés 5-(4-halogénobenzylidène-amino) pyrazolo [3,4-d] -pyrimidin-4-one **69** (Schéma 17). Le composé **65** a également été utilisé en le laissant réagir avec certaines α -bromoacétophénones dans l'éthanol en présence d'acide *p*-toluènesulfonique comme catalyseur pour donner le produit cyclisé 1,9-diphényl-7-(4-halophényl) - 8,9-dihydropyrazolo [3,4-d] pyrimidino [1,2-b] [1, 2,4] triazin-4-ones **70** (Schéma 17).⁶⁷

⁶⁷El-Bendary, E. R., *et al.* "Synthesis, DNA-binding, and Antiviral Activity of Certain Pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine Derivatives." *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry* 333.4 (2000): 99-103.

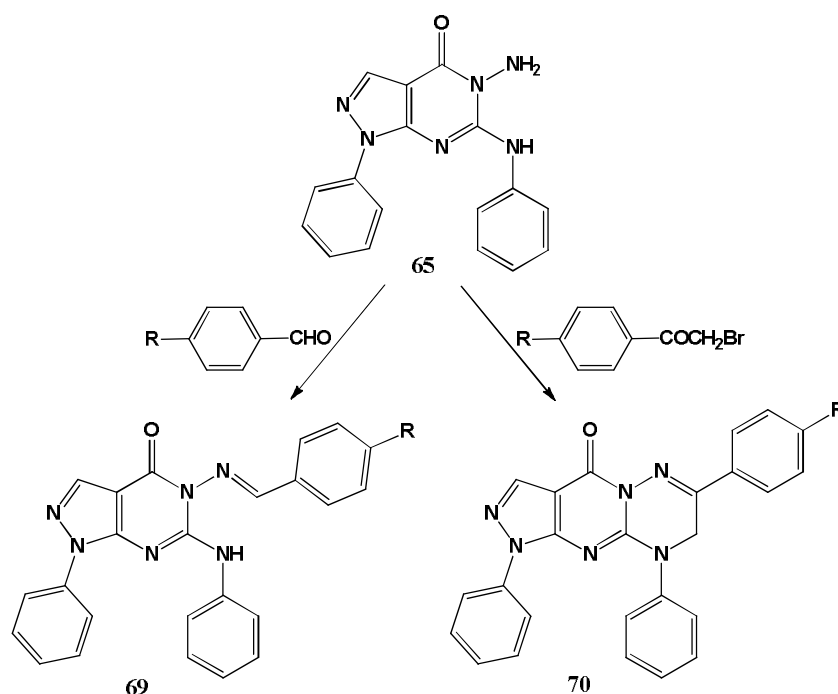


Schéma 17 : Synthèse des pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-one par El-Bendary et al

Les produits issus des travaux réalisés par El-Bendary et *al.*⁵⁴ (Schéma 16 et 17) ont été testés pour leurs activités antivirales.

El-Enany et *al.*,⁶⁸ ont décrit la synthèse de 6-(chlorométhyl)-1-phényl-1*H*-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4 (5*H*) -one **73** en deux étapes à partir de la 5-amino-1-phényl-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile **71** via le composé amide **72** (Schéma 18).

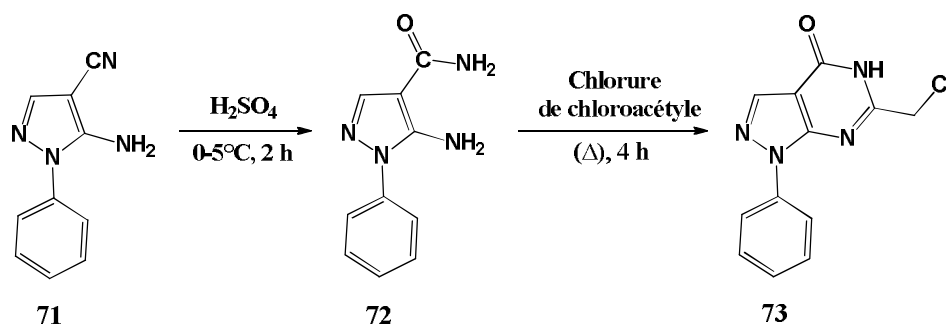


Schéma 18 : Réaction de formation des pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ones

Ces mêmes auteurs⁵⁵ ont, en outre, synthétisé une série de nouveaux 6-arylp⁶⁸ pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ones (**75** et **76**) en utilisant le 5-amino-3-méthylsulphanyl-1-phényl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide **74** comme produit de départ qui a été mis à réagir avec des

⁶⁸El-Enany., et al."Synthesis and antitumor activity of novel 6-aryl and 6-alkylpyrazolo [3, 4-d] pyrimidin-4-one derivatives." *European journal of medicinal chemistry* 45.11 (2010): 5286-5291.

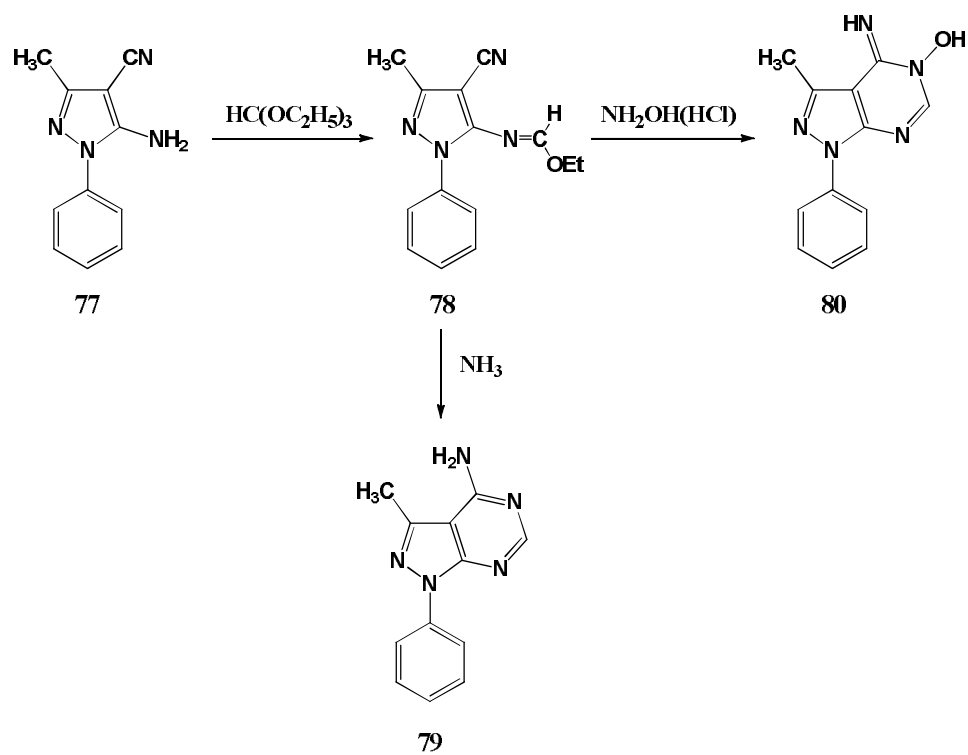


Schéma 20 : Synthèse de nouveaux composés pyrazolopyrimidines et la pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-5-(4*H*)-ol

Dans le but d'identifier de nouvelles molécules ayant une activité antituberculeuse, Shejale, Savita R.*et al.*⁵⁷ ont synthétisé deux séries de pyrazolopyrimidines au départ des dérivés chalcones **81**. La première série **82** a été préparée par la mise en réaction du composé **81** avec la thiourée dans une solution éthanolique de C₂H₅ONa. La deuxième série de pyrazolopyrimidines **83** a été obtenu en faisant réagir cette fois le composé **81** avec l'aminotriazole dans l'acide acétique (**Schéma 21**).

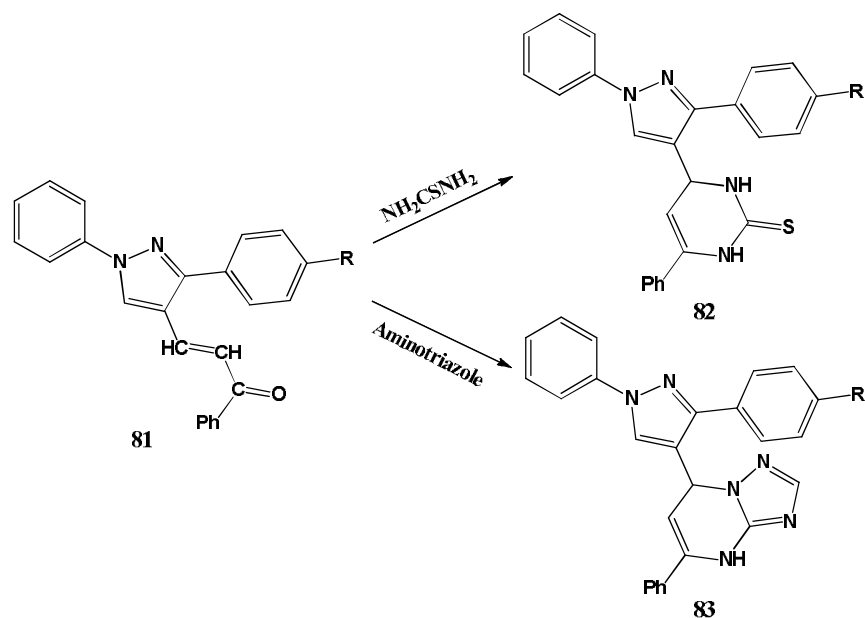


Schéma 21 : Synthèse des pyrazolopyrimidines au départ des dérivés chalcones

Le schéma 22 rassemble les synthèses réalisées par T. El-Sayed Ali.⁶⁰ ayant portés sur l'accès aux pyrazolopyrimidines. La première voie démontre que le traitement du composé 5-amino-1-(5,6-diphenyl-1,2,4-triazin-3-yl)-3-(méthylthio)-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile **84** avec l'anhydride acétique donne accès au dérivé de 3-méthylthio-pyrazolo [3,4-*d*] pyrimidine **85**.

Au cours de la deuxième voie de synthèse (**Schéma 22**), une quantité équimolaire des composés **84** et **86** a été porté à reflux dans de l'éthanol pour donner le dérivé pyrazole correspondant **87** avec un bon rendement de 76% (**Schéma 22**). Le composé **87**, qui semble être un candidat utile pour d'autres transformations chimiques, a été mis en réaction avec l'hydrazine dans le DMF pour générer l'intermédiaire non isolable **88**, qui a subi une cyclisation intramoléculaire via l'addition du groupe fonctionnel NH du groupement pyrazole au groupe CN pour donner la pyrazolo [1,5-*a*: 3',4'-*d*] pyrimidine **89** comme produit final.

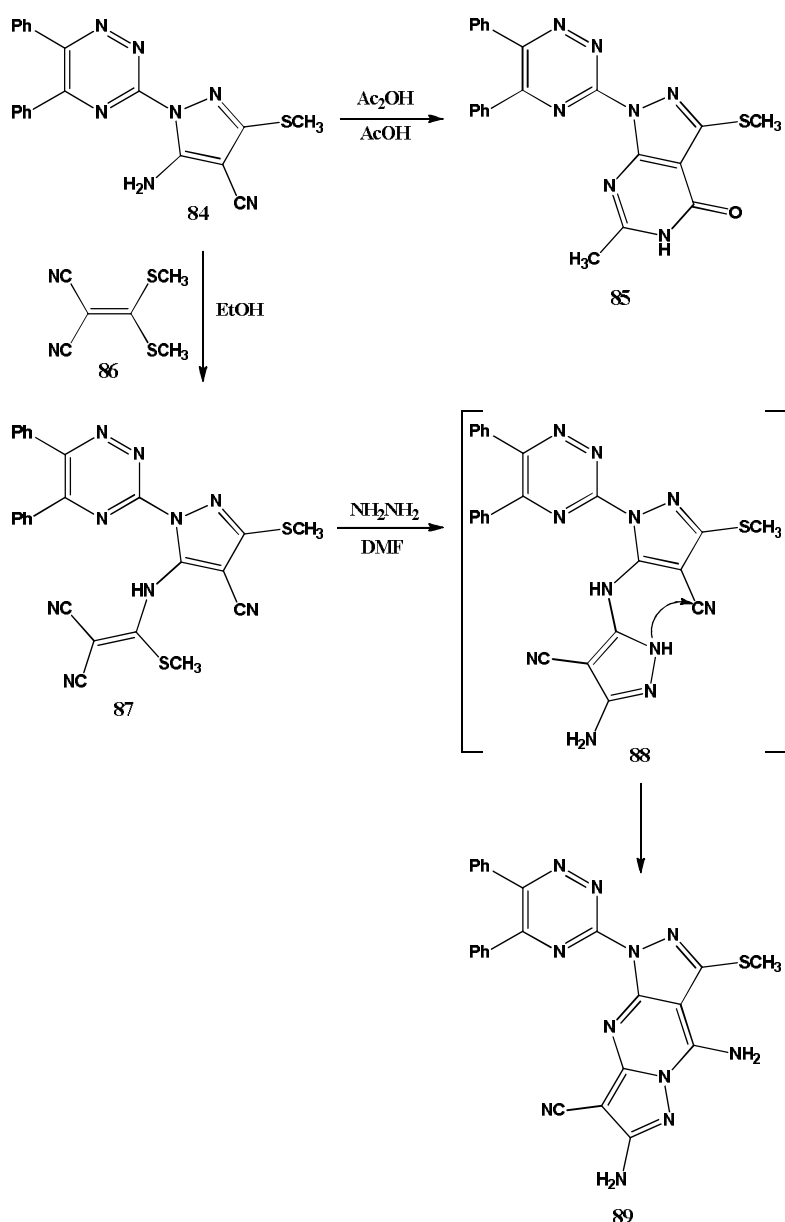


Schéma 22 : Nouvelles voies d'accès aux pyrazolopyrimidines

L'exemple suivant (**Schéma 23**) décrit la synthèse et l'évaluation de nouveaux composés 1-aryl-5-phényl-6-anilino-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ones **94** pour l'activité anti-inflammatoire et le potentiel ulcérogène. S. B. Yewale et *al.*⁷⁰ ont rapporté la synthèse des composés cibles en faisant réagir le bisméthylthio-2-cyanoacrylate d'éthyle **90** avec des hydrazines aromatiques **91**. La réaction a été effectuée dans du diméthylformamide (DMF) en présence d'une quantité catalytique de carbonate de potassium anhydre (K_2CO_3), ce qui a

⁷⁰Yewale, Sandeep B., *et al.* "Novel 3-substituted-1-aryl-5-phenyl-6-anilino-pyrazolo [3, 4-d] pyrimidin-4-ones: docking, synthesis and pharmacological evaluation as potential anti-inflammatory agents." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 22.21 (2012): 6616-6620.

donné l'éthyl-5-amino-3-méthylthio-1-aryl-2*H*-pyrazole)-4-carboxylate **92**, qui, lors d'un traitement indépendant avec la *S*-méthyl diphenyl thiourée, ont donné les pyrazolo [3,4-*d*] pyrimidines **93** à substitution diverse sur le groupe anilino.

Les composés **93** réagissent avec les amines aromatiques pour produire les composés de structure 1-aryl-5-phényl-6-anilino pyrazolo [3,4- *d*] pyrimidin-4-ones **94** par une substitution nucléophile.

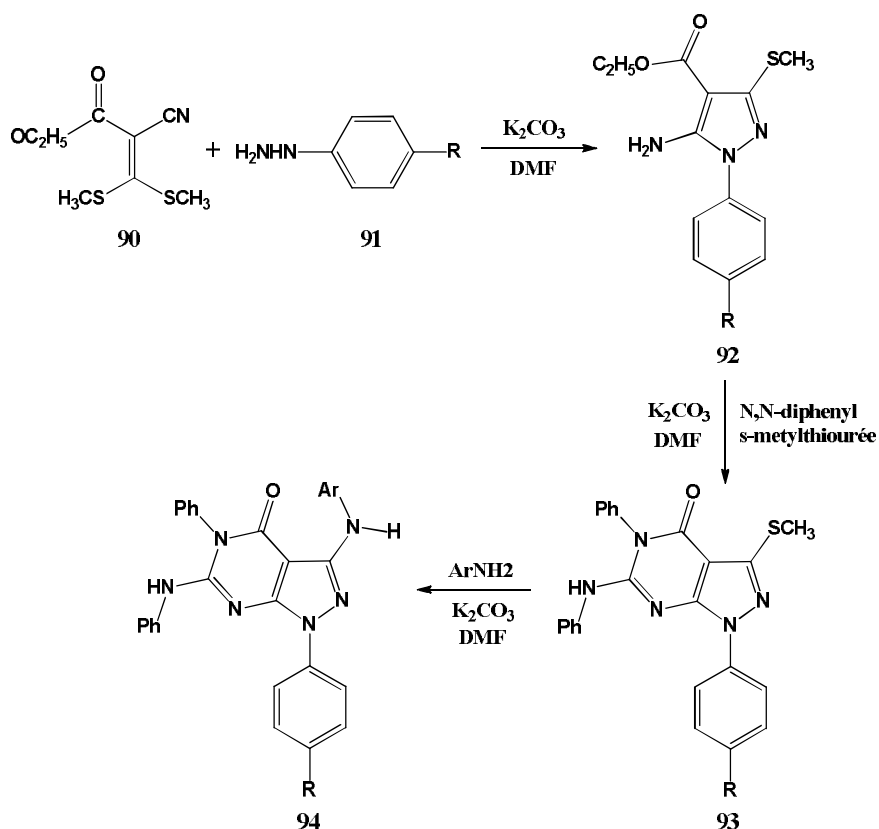


Schéma 23 : Synthèse d'1-aryl-5-phényl-6-anilino pyrazolo [3,4- *d*] pyrimidin-4-ones par réaction de substitution nucléophile

L'acide 2-(pyrazolo [1,5-*a*] pyrimidin-5-yl) benzoïque **97** a été générée par la mise en réaction du composé 5-amino-1*H*-pyrazole **95** et 3-(3-oxo-2 benzofuran-1(3*H*)-ylidène)-pentane-2,4-dione **96** sans solvant. Ceci correspond aux travaux de J. Quiroga *et al.* (**Schéma 24**).⁷¹

⁷¹Quiroga, Jairo., *et al.* "Regioselective synthesis of novel substituted pyrazolo [1, 5-*a*] pyrimidines under solvent-free conditions." *Tetrahedron Letters* 49.43 (2008): 6254-6256.

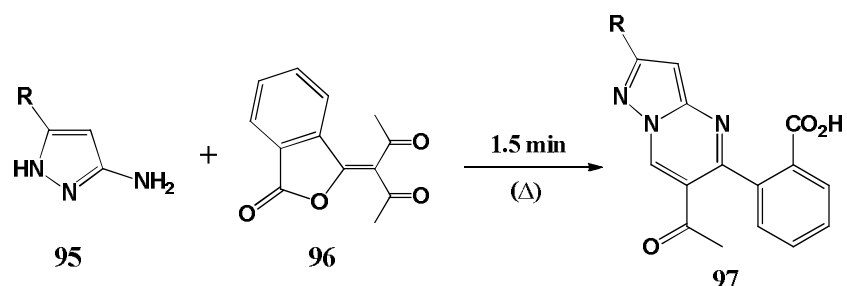


Schéma 24 : Synthèse régiosélective de nouvelles pyrazolo [1,5-a] pyrimidines substituées

J. Quiroga et *al.*⁷¹ ont également synthétisé une série de 6-(2-hydroxybenzoyl)-5-méthyl-7-phénylpyrazolo [1,5-a] pyrimidines **99** à partir du 5-amino-1H-pyrazoles **95** et le 3-benzoyl-2-méthyl-4H-chromén-4-one **98**. Cette réaction sans solvant se déroule de manière régiospécifique par ouverture intramoléculaire du cycle γ -pyrone dans une réaction de type Michael, suivie d'une cyclisation par attaque nucléophile du pyrazole endocyclique sur le groupe benzoyle donnant ainsi les pyrazolo [1,5-a] pyrimidines **99**. L'utilisation de ce procédé offre des rendements élevés en des temps de réaction courts (**Schéma 25**).

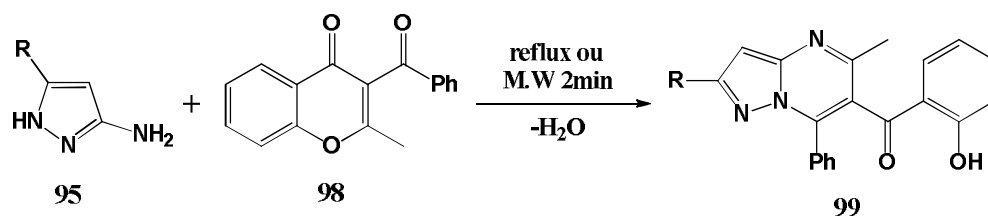


Schéma 25 : Synthèse régiospécifique des pyrazolo [1,5-a] pyrimidines par réaction de type Michael

Une autre méthode de synthèse, développée par Salah Fadel *et al.*⁶⁵ consiste en la formation d'un mélange de nouveaux pyrazolo [3,4-b] pyridin-3-ones **102** et pyrazolo [1,5-a] pyrimidin-2 (1H)-ones **103** par condensation du composé 3-amino-1-phénylpyrazolin-5-one **100** avec les dérivés 2-pyrones **101** (**Schéma 26**).

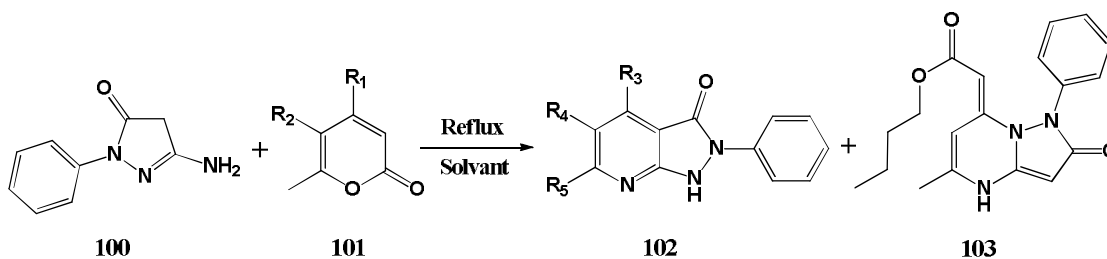


Schéma 26 : Réaction de formation d'un mélange de nouveaux pyrazolo [3,4-b] pyridin-3-ones et pyrazolo [1,5-a] pyrimidin-2 (1H)-ones

Avant d'exposer les résultats obtenus dans le cadre de ce travail, nous avons voulu rappeler de façon générale l'intérêt des cyanoacétohydrazides eu égard à leurs multiples utilisations dans diverses synthèses réalisées dans notre laboratoire et particulièrement dans le présent travail. En nous basant sur les travaux antérieurs réalisés au sein de notre laboratoire,⁷² nous avons pu voir que les dérivés cyanoacétohydrazides représentaient des intermédiaires de synthèse très intéressants.

III. Le motif 2-cyanoacétohydrazide

Le motif 2-cyanoacétohydrazide ou l'acide cyano acétique hydrazide (**Figure 4**), est un intermédiaire polyvalent pour la synthèse d'une large variété de composés hétérocycliques facilement accessibles et largement exploités en tant que synthons dans la préparation de différentes molécules d'intérêt pharmacologique et industriel.⁷³

Les 2-cyanoacétohydrazides fonctionnalisées combinent à la fois un caractère nucléophile issu du groupement méthylène actif en (position 4) et les deux groupements amino (positions 1 et 2) et un caractère électrophile issu de la fonction carbonyle (position 3) et l'atome du carbone de la fonction nitrile en (position 5). (**Figure 4**)

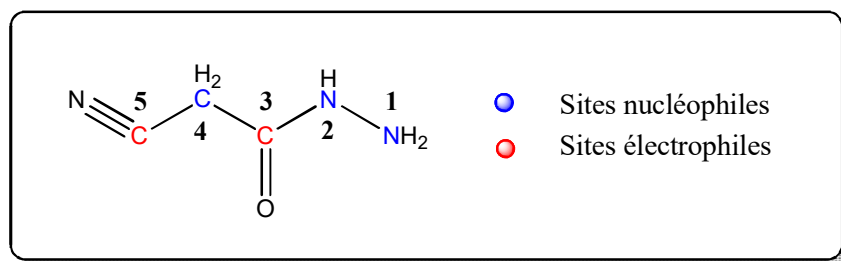


Figure 4 : Sites actifs du motif 2-cyanoacétohydrazide

C'est cette réactivité particulière qui fait de ce motif un bon candidat en tant qu'intermédiaire de synthèse d'une variété de composés hétérocycliques polyfonctionnels d'intérêt biologique.⁷⁴

La figure 5 donne un résumé de divers composés hétérocycliques qui peuvent être synthétisés en utilisant la cyanoacétohydrazide⁷⁵ dont le potentiel synthétique est considérable.

⁷² Bentarzi, Yamina., *et al.* "Synthesis of 2-thioxoimidazolin-4-one and thiazolo [3, 2-a]-benzimidazole derivatives from substituted maleimides." *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry* (2010).

⁷³ Bondock, Samir., *et al.* "Utility of cyanoacetic acid hydrazide in heterocyclic synthesis." *Arkivoc* 2006 (2006): 113-156.

⁷⁴ Martins, Marcos AP., *et al.* "Reaction of β -alkoxyvinyl halomethyl ketones with cyanoaceto hydrazide." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 19.7 (2008): 1361-1368.

⁷⁵ Hosseini, Hajar., *et al.* "Cyanoaceto hydrazides in Synthesis of Heterocyclic Compounds." *Topics in Current Chemistry* 376.6 (2018): 40.

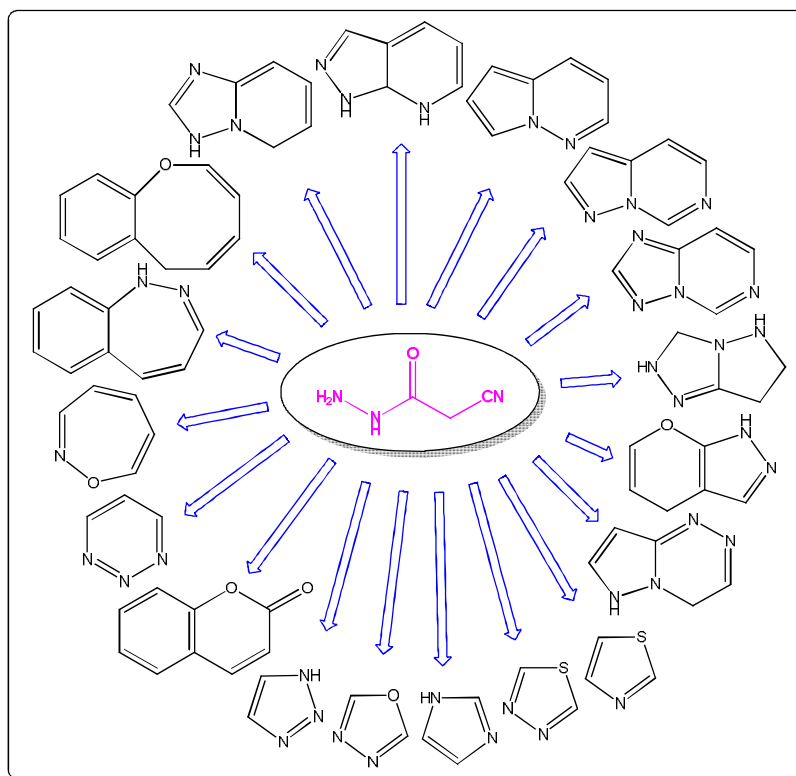


Figure 5 : Résumé de divers composés hétérocycliques synthétisés à l'aide du cyanoacétohydrazide

IV. Conclusion :

Dans la première partie de ce chapitre nous avons décrit l'intérêt de l'ensemble des motifs ciblés (pyrazolones, pyrazolopyridinones et pyrazolopyrimidinones). En effet, ces entités sont omniprésentes dans une variété de composés importants et de médicaments puissants présentant une grande variété de propriétés biologiques et thérapeutiques.

Les principales voies d'accès à ces produits sont relativement variées et leur comportement chimique est généralement étudié en relation avec leurs spécificités biologiques potentielles.

Par ailleurs, les composés pyrazoloniques condensés à d'autres hétérocycles se sont révélés être des intermédiaires utiles pour la synthèse de divers composés ayant un rôle clé dans le domaine médical en raison de leurs diversités structurales et leurs propriétés pharmaceutiques.

Un rapide coup d'œil sur les bases de données bibliographiques permet de se rendre compte que la première activité des dérivés pyrazoliques mise en évidence est leur capacité antioxydante.

CHAPITRE I / Partie A : Synthèse bibliographique

Les informations obtenues lors de cette étude bibliographique permettent donc d'avoir une idée assez précise du potentiel chimique des dérivés pyrazoliques et offre ainsi la capacité de pouvoir anticiper, dans la mesure du possible, les résultats pouvant être obtenus.

Partie B

*Synthèse et étude structurale des dérivés
pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et
pyrazolopyridinones*

I. Introduction

Le survol bibliographique effectué précédemment montre clairement l'intérêt que peuvent susciter les dérivés cyanoacétohydrazides **108a-e** dans la synthèse des pyrazolopyrimidinones **110a-k**, pyrazolones **111a-c** et pyrazolopyrimidinones **111d-e** très recherchés par les chimistes et les biologistes. Suite aux résultats encourageants réalisés par notre groupe de recherche⁷² et en continuité de ce travail d'élaboration de composés hétérocycliques azotés, nous nous sommes particulièrement intéressés à l'utilisation de l'intermédiaire 2-cyano-N'-(2, 5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide **108a-e** pour la mise au point de méthodologies originales dans l'obtention de nouvelles structures pyrazoloniques potentiellement bioactives (**Schéma 27**).

Les trois séries de dérivés pyrazoliques isolés ont une structure hétérocyclique de base commune, un cycle pyrazole. Il est condensé à la pyridine dans **110a-k** et à la pyrimidine dans **111d-e** et est N-substitué par un maléimidyl dans **111a-c**.

Les dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide **108a-e** ont été préparés selon une voie déjà expérimentée au laboratoire⁷² et ont servi de matières premières dans la synthèse de nombreux dérivés qui se sont révélés potentiellement importants. Pour les besoins de notre travail, nous avons repris la synthèse de ces précurseurs selon le schéma **28**.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

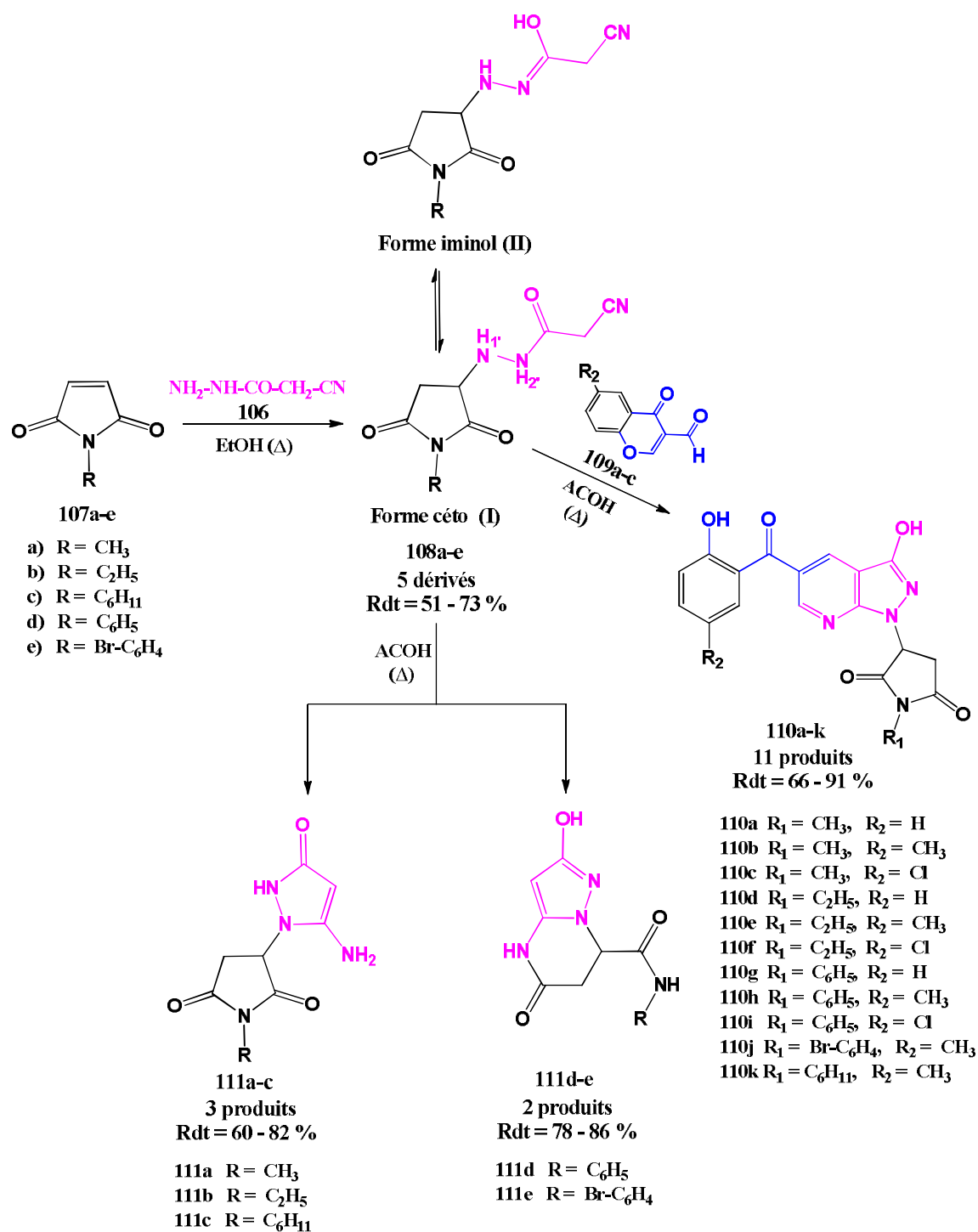


Schéma 27 : Stratégie de synthèse despyrazolopyridinones **110a-k**, despyrazolones **111a-c** et des pyrazolopyrimidinones **111d-e**

II. préparation des précurseurs 118a-e

Les produits **118** sont synthétisés en deux étapes à partir de l'éthyle cyano acétate **104** et l'hydrazine hydratée **105** conduisant, après recristallisation dans l'éthanol, à l'acide cyano acétique hydrazide **106** qui à son tour réagit avec les dérivés maléimides commerciaux **107a-e** au reflux de l'éthanol pour conduire aux composés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazides **108a-e** souhaités avec un bon rendement (51-74%). La séquence réactionnelle est représentée dans le schéma **28**.

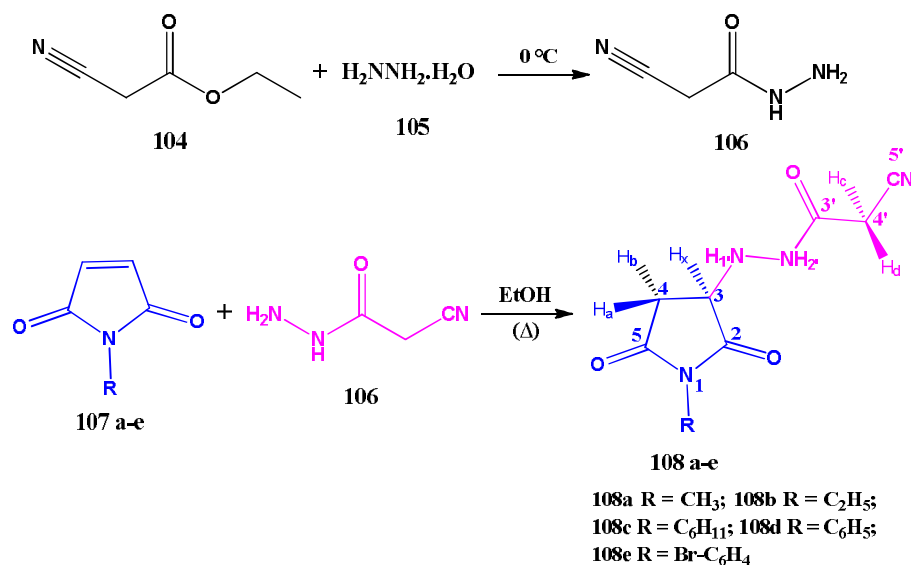


Schéma 28 : Synthèse des dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide **108a-e**

Les données spectroscopiques des précurseurs préparés **108a-e** sont compatibles avec celles décrites dans la littérature.⁷²

Les sites réactifs des intermédiaires **108a-e** sont susceptibles de donner lieu à de nouvelles fonctionnalisations. C'est dans cette optique que nous avons voulu exploiter ici les dérivés de 3-formylchromone **109a-c** dans le but de réaliser une nouvelle hétérocyclisation.

III. Action des 3-formylchromones sur les intermédiaires 108a-e

La condensation en quantités équimolaires des dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxypyrrolidin-3-yl) acétohydrazide **108a-e** avec les dérivés de la 3-formylchromone **109a-c**, dans l'acide acétique glacial à reflux en présence d'une quantité catalytique d'acétate d'ammonium, a fourni une série de dérivés de pyrazolopyridinones substitués **110a-k** sur les bases de données analytiques et spectrales avec des rendements de 66-91% après des temps de réaction courts. (Schéma29)

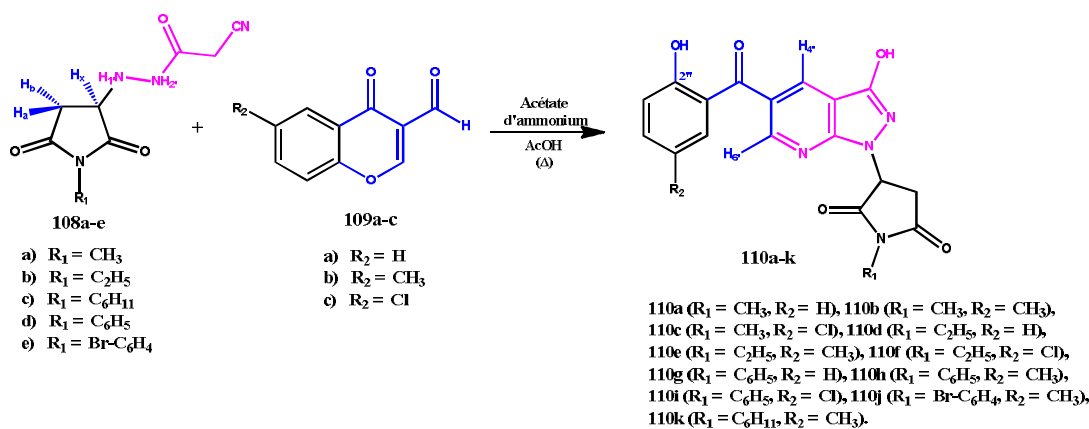


Schéma 29: Synthèse des dérivés pyrazolopyridinones **110a-k**

III.1. Mécanisme réactionnel

Le mécanisme de cette réaction implique théoriquement la condensation de Knoevenagel des composés **108a-e** avec des dérivés de la 3-formylchromone **109a-c** initialement catalysée par l'acétate d'ammonium dans l'acide acétique, donnant ainsi naissance à un intermédiaire [A]. Ce dernier est extrêmement réactif de sorte qu'il puisse facilement être soumis à une addition nucléophile du groupement amine secondaire NH sur le groupe nitrile (CN) suivie du clivage du cycle pyrone en C-2 par l'azote de la fonction nitrile générant ainsi un autre intermédiaire [A']. Enfin, ce dernier subit un électro-réarrangement intramoléculaire conduisant à la formation d'un système plus stable **110a-k**.

Les différentes étapes réactionnelles sont regroupées sur le schéma **30** ci-dessous.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

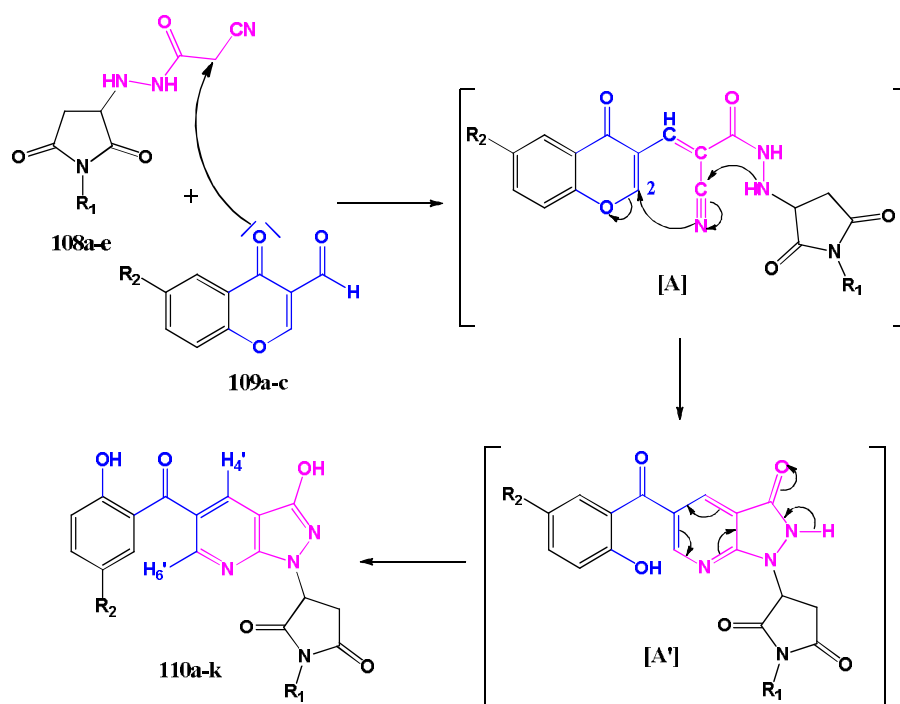


Schéma 30: Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des composés pyrazolopyrimidinones **110a-k**

Les produits de cette réaction ont été obtenus avec des rendements moyens à excellents et sont résumés dans le tableau 1 ci-dessous

Tableau 1 : Synthèse des pyrazolopyrimidinones **110a-k** à reflux d'acide acétique en présence d'acétate d'ammonium

Composé	R ₁	R ₂	Temps (min)	Rdt(%)	Pf °C
110a	CH ₃	H	30	74	235 – 236
110b	CH ₃	CH ₃	20	80	154 – 155
110c	CH ₃	Cl	25	85	258 – 259
110d	C ₂ H ₅	H	40	74	207 – 208
110e	C ₂ H ₅	CH ₃	30	91	187 – 188
110f	C ₂ H ₅	Cl	20	81	125 – 126
110g	C ₆ H ₅	H	40	89	259 – 260
110h	C ₆ H ₅	CH ₃	15	87	236 - 237
110i	C ₆ H ₅	Cl	20	90	258 – 259
110j	Br-C ₆ H ₄	CH ₃	15	69	254–255
110k	C ₆ H ₁₁	CH ₃	50	66	196–197

Les meilleurs rendements, 91% et 90%, sont obtenus avec le dérivé **110e** et **110i** respectivement. Les rendements obtenus étant relativement proches, il n'est pas aisé de relier ces dernières valeurs aux critères structuraux.

III.2. Caractérisation spectrale des composés 110a-k

Afin de résoudre la structure exacte des composés **110a-k**, nous nous sommes basés sur les différentes données spectroscopiques, RMN 2D, spectrométrie de masse ainsi que l'analyse par diffraction des rayons X sur monocristal.

III.2.1. Etude en spectroscopie de masse à haute résolution (HRMS)

La spectroscopie de masse à haute résolution des produits **110** a confirmé la réaction des dérivés formylchromones avec les produits de départ **108a-e**. Trois formes cationiques $[M+H]^+$, $[M+2H]^{2+}$ ou $[M+3H]^{3+}$ qui sont compatibles avec les formules brutes attendues ont été enregistrées.

Les masses théoriques (calculées) ainsi que les masses expérimentales (trouvées) de chaque produit des composés pyrazolopyrimidinones sont données dans le Tableau 2.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

Tableau 2 : Les données de la HRMS-ESI⁺ des composés **110a-k**

Produit	Formule brute	Ion	Masse exp.	Masse théor.
110a	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	367.1033	367.1037
		[M+2H] ²⁺	368.1164	368.1110
110b	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	381.2965	381.1193
		[M+2H] ²⁺	382.2995	382.1266
110c	C ₁₈ H ₁₃ ClN ₄ O ₅	[M+H] ⁺	401.0639	401.0647
		[M+3H] ³⁺	403.0606	403.0793
110d	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	381.1183	381.1193
		[M+2H] ²⁺	382.1207	382.1266
110e	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	395.1343	395.1350
		[M+2H] ²⁺	396.1373	396.1423
110f	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ O ₅	[M+H] ⁺	415.0794	415.0804
		[M+2H] ²⁺	416.0825	416.0877
110g	C ₂₃ H ₁₆ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	429.1182	429.1193
		[M+2H] ²⁺	430.3873	430.1266
110h	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	443.1336	443.1350
		[M+2H] ²⁺	444.1360	444.1423
110i	C ₂₃ H ₁₅ ClN ₄ O ₅	[M+H] ⁺	463.0801	463.0804
		[M+3H] ³⁺	465.0772	465.0949
110j	C ₂₄ H ₁₇ BrN ₄ O ₅	[M+H] ⁺	521.0444	521.0455
		[M+3H] ³⁺	523.0421	523.0601
110k	C ₂₄ H ₂₄ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	449.1808	449,1819
		[M+2H] ²⁺	450.1834	450.1892

III.2.2. Etude en Résonance Magnétique Nucléaire de RMN

III.2.2.1. Etude en RMN ¹H

Les spectres de RMN ¹H des composés **110a-k** réalisés à 300 et 500 MHz dans le DMSO-d₆ montrent :

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

- une disparition des signaux correspondant aux protons portés par les deux atomes d'azotes NH-1' et NH-2' des produits **108**; situés entre 5.69-5.88 ppm et entre 9.67-9.79 ppm, respectivement, confirmant ainsi leurs engagement dans la réaction de cyclisation,
- une disparition des pics du groupement méthylène d'intensité deux protons centrés entre 3.56-3.67 ppm dans les composés **108**; ce qui confirme la condensation du carbanion en α du $C\equiv N$ sur la fonction formyl des formylchromones,
- une apparition de deux signaux dans les champs faibles à $\delta = 10,06$ ppm et 11,81 ppm correspondant respectivement aux protons des groupements 2''-OH, porté par l'unité phényle, et 3'-OH, porté par le cycle pyrazol-3-ol, confirme à son tour la condensation qui a eu lieu,
- une apparition de deux nouveaux pics observés à $\delta = 8.42-8.50$ ppm et $\delta = 8.81-8.92$ ppm attribuables respectivement aux protons H-4' et H-6' portés par le cycle pyridine,
- un système de spin ABX pour la fraction maléimide est toujours conservé, les protons H_a, H_b et H_x sont apparus dans les zones 2.98 - 3.27, 3.22 - 3.57 et 5.98 - 6.23 ppm, respectivement.

A titre indicatif nous rapportons sur la figure **6**, les attributions des différents déplacements chimiques δ (ppm) en RMN 1H du dérivé **110b**.

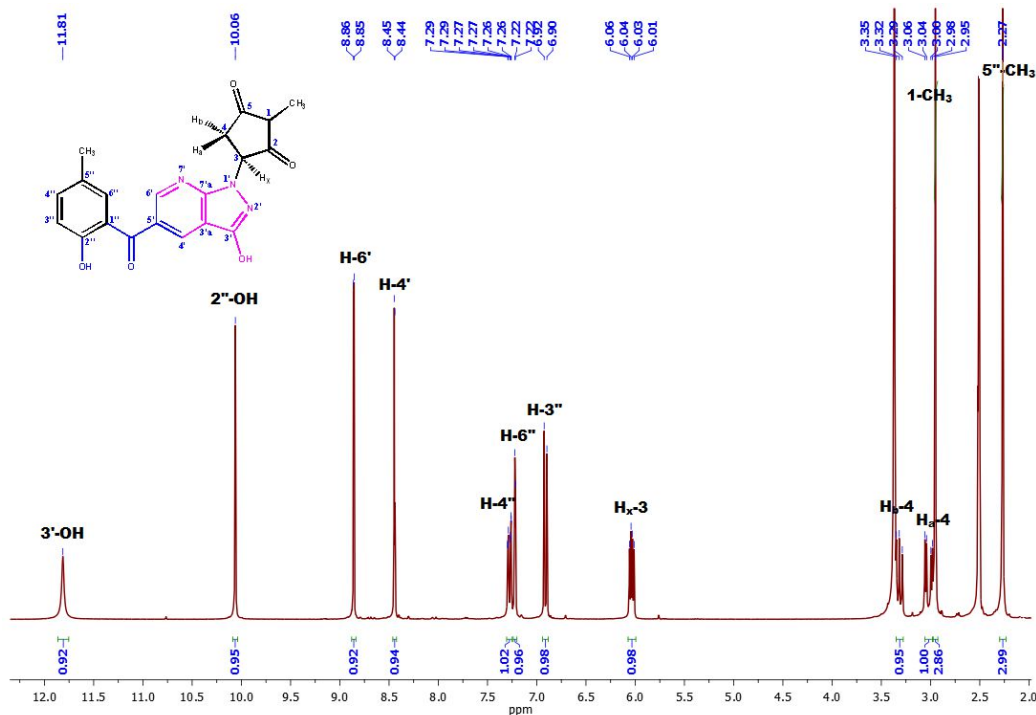


Figure 6 : Spectre de RMN ^1H du dérivé **110b**

III.2.2.2. Etude par spectroscopie RMN ^{13}C , HSQC et HMBC.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C réalisé à 75 MHz des composés **110a-k** a fourni plus d'indications et a permis de confirmer la condensation des précurseurs **108** avec les formylchromones **109**. En effet, la comparaison du spectre RMN ^{13}C du produit de départ **108** avec le composé d'arrivée **110** révèle la disparition du signal correspondant au carbone de la fonction nitrile attendu vers 115.8-116.48 ppm accompagné de l'apparition d'un signal relatif au carbone quaternaire de jonction C-7'a à environ 151.73-151.95 ppm. On observe aussi la disparition du pic à 23.78-23.89 ppm attribuable au carbone secondaire (CH_2H_4) du composé **108** qui s'est transformé en carbone quaternaire de jonction C-3'a du noyau pyrazolique qui correspond à un signal dans la zone 104.74-105.00 ppm.

D'autre part, on remarque la présence d'un signal à 155.09-155.41 ppm caractéristique du carbone (C-3') portant l'hydroxyle et la disparition du pic à 162.0-167.3 ppm caractéristique du carbone du carbonyle de la fonction amide dans le composé **108**.

La figure 7 indique les attributions des signaux observés pour le composé **110b**.

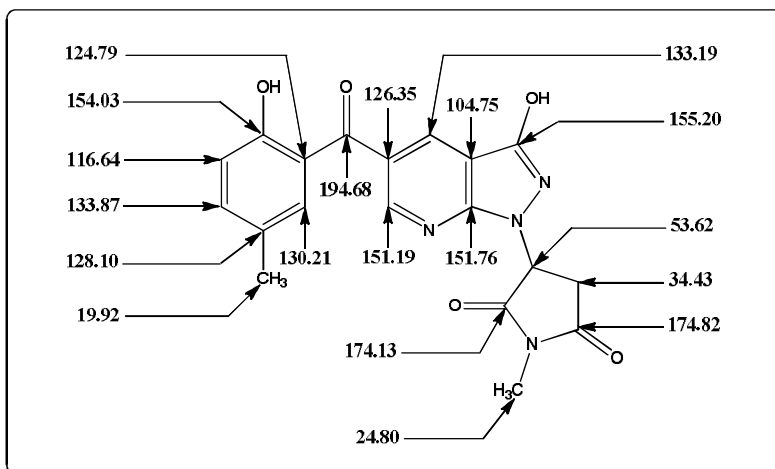


Figure 7 : Caractéristiques spectrales RMN ^{13}C du dérivé **110b**

L'analyse minutieuse du spectre HSQC, comme dans les spectres précédents, nous a aidé à affecter tous les carbone protonés (1J) tels que : CH_3 (C-5'') à $\delta = 19.92$ ppm, CH_3 (N-1) à $\delta = 24.80$ ppm, C-4 à $\delta = 34.43$ ppm, C-3 à $\delta = 53.62$ ppm, C-4' à $\delta = 133.19$ ppm et C-6' à $\delta = 151.19$ ppm ainsi que les trois autres carbone aromatiques protonés (116.64, 130.21, 133.87 ppm). Le reste des carbone (non protonés ou quaternaires) a été identifié à l'aide des corrélations $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ à distance 2J et 3J du spectre HMBC, nous pouvons donc attribuer les sept atomes de carbone quaternaires: C-3'a à $\delta = 104,75$ ppm, C-1'' à $\delta = 124,79$ ppm, C-5' à $\delta = 126,35$ ppm, C-5'' à $\delta = 128,10$ ppm, C-7'a à $\delta = 151,76$ ppm, C-2'' à $\delta = 154,03$ ppm et C-3' à $\delta = 155,20$ ppm.

Ces différentes corrélations sont représentées dans la Figure 8 et résumées dans le tableau 3 suivant :

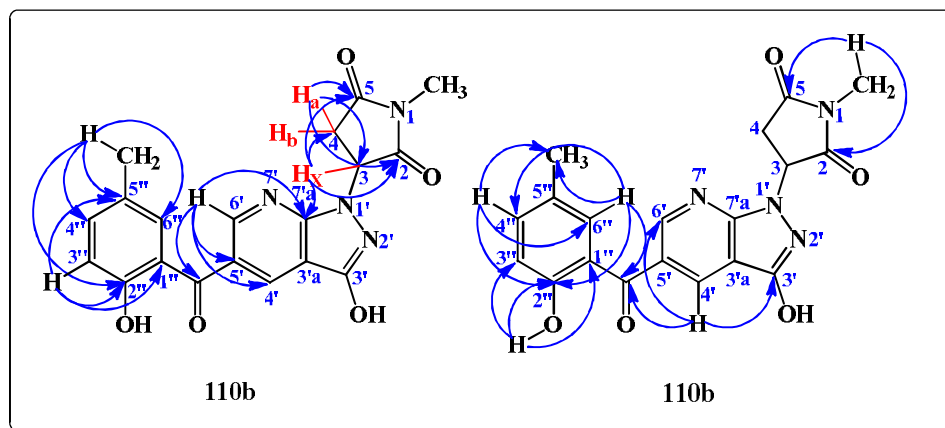


Figure 8 : Connectivités HMBC du composé **110b**

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

Tableau 3 : Résultats des spectres de RMN¹³C et RMN¹H avec HSQC et HMBC du produit **110b**

N° du carbone	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	HSQC H-C (¹ J)	HMBC H-C (² J, ³ J)
C-2	174.13	-	-	H-1, H _a -4, H _b -4, H-3
C-3	53.62	6.03	H-C-3	H _a -4, H _b -4
C-4	34.43	3.01 / 3.31	H _a -C-4 / H _b -C-4	H-3
C-5	174.82	-	-	H-1, H _a -4, H _b -4, H-3
C-3'	155.20	-	-	H-4'
C-3'a	140.75	-	-	-
C-4'	133.19	8.44	H-C-4'	H-6'
C-5'	126.35	-	-	H-6'
C-6'	151.19	8.86	H-C-6'	H-4'
C-7'a	151.76	-	-	H-3, H-6'
C-1''	124.79	-	-	H-3''
C-2''	154.03	-	-	H-3'', H-6'', H-4''
C-3''	116.64	6.91	H-C-3''	-
C-4''	133.87	7.28	H-C-4''	H-5'', H-6''
C-5''	128.10	-	-	H-5'', H-3''
C-6''	130.21	7.22	H-C-6''	H-5'', H-4''
1-CH ₃	24.80	2.95	H-C-1	-
5''-CH ₃	19.92	2.27	H-C-5''	H-6'', H-4''
C=O	194.68	-	-	H-3'', H-6'', H-4', H-6'

III.2.3. Analyse cristallographique du composé 110e

La structure du composé **110e** a été confirmée par diffraction des rayons X. La méthode utilisée pour obtenir le monocristal est la cristallisation par évaporation lente qui consiste à dissoudre le produit dans l'éthanol, puis à laisser la solution s'évaporer lentement à 6 °C en prenant soin de minimiser tout phénomène qui pourrait perturber la cristallisation, telles que les vibrations.

La structure déterminée par l'ORTEP (**figure 9**) confirme celle déduite par spectroscopie RMN.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

L'analyse DRX permet de mettre en évidence la formation des liaisons hydrogène. La structure cristalline du composé **110e** comporte une liaison hydrogène intermoléculaire de type **O-H...O** établie entre l'oxygène **O2** et l'hydrogène **H10** lié à l'atome **O1**, elle est représentée par des lignes jaunes en pointillés dans la figure **10**.

Cette liaison est caractérisée par les variables suivantes :

- la distance donneur-hydrogène $D\cdots H$ (Å) : $O1\cdots H = 0.84$ Å,
- l'interaction hydrogène –accepteur $H\cdots A$ (Å): $H\cdots O2 = 1.85$ Å,
- l'angle donneur-hydrogène-accepteur $D-H\cdots A(^{\circ})$: $(O1-H1O\cdots O2) = 144.7^{\circ}$ et $d(O\cdots O) = 2.5813(19)$ Å.

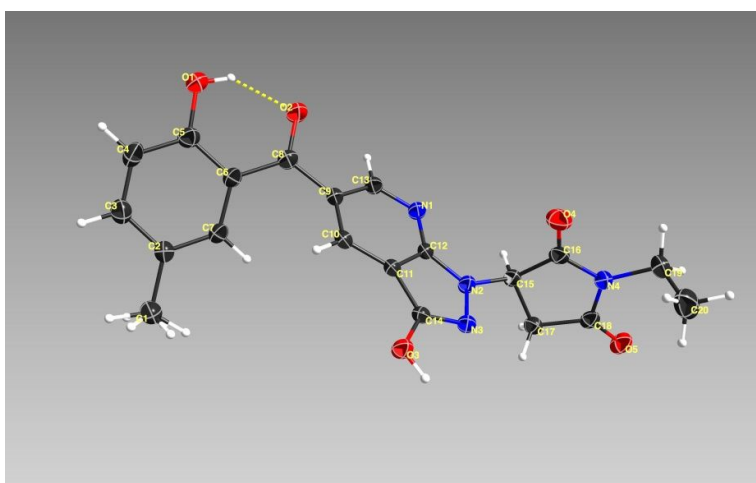


Figure 9 : Présentation ORTEP du composé **110e**

Les conditions d'enregistrement des intensités diffractées, les données cristallographiques ainsi que les résultats des affinements sont rassemblés dans le tableau **4**.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

Tableau 4 : Les données cristallographiques du composé **110e**

Paramètres structuraux	Conditions d'enregistrement	Conditions d'affinement
Formule brute: C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₅ Masse moléculaire (g.mol⁻¹) : 394.38 Densité calculée (g.cm⁻³): 1.387 Coefficient d'absorption (mm-1) : 0.102 Dimensions du cristal (mm³) : 0.240 x 0.220 x 0.090 Système cristallin: Orthorhombique Groupe spatial: Pbca Nombre de motif par maille Z : 8 Paramètres cristallins : a = 12.6820(6) Å α = 90° b = 9.3098(5) Å β = 90° c = 32.0017(16) Å γ = 90° Volume : V = 3778.3(3) Å ³	Température (K) : 150(2) Angle (°) : 3.723 à 25.348°. Réflexions mesurées : 23008	Réflexions indépendantes : 3443 [R(int) = 0.0536] F (000) (e-/maille) : 1648 Facteur de reliabilité R (facteur d'accord) : R ₁ = 0.0616, wR ₂ = 0.1070

Les dérivés **108a-e** comportant le motif acide cyano acétique hydrazide, entité requise pour la synthèse envisagée, possèdent les groupements NH, C=O et CN et peuvent se révéler très interactifs en milieu acide, d'où notre idée d'essayer de nouvelles hétérocyclisations par condensation dans des conditions de catalyse acide.

IV. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 108a-e

La nouvelle voie de synthèse que nous nous proposons de réaliser est une réaction des intermédiaires, déjà préparés **108a-e**, vis-à-vis de l'acide acétique glacial (médiateur protonique). Compte tenu de la nature des sites réactionnels des dérivés **108**, nous pouvons imaginer les séquences réactionnelles représentées sur le schéma **31**.

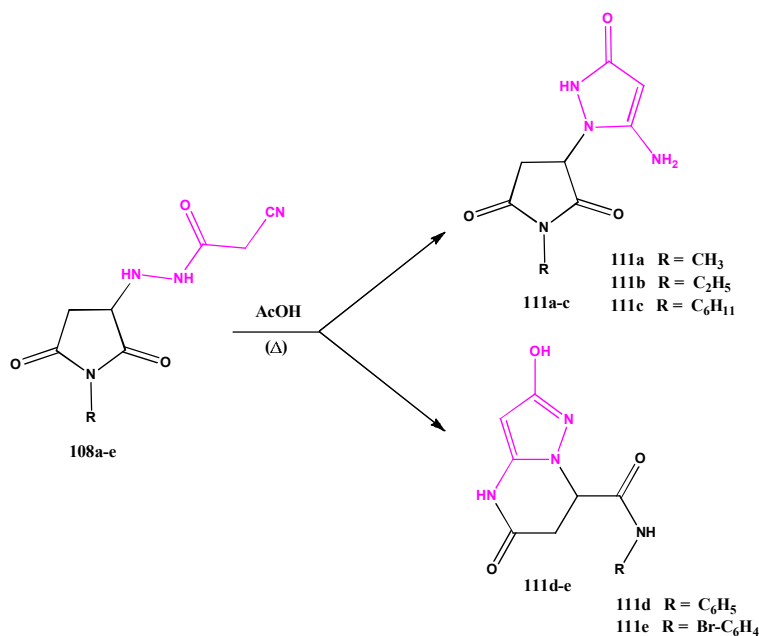


Schéma 31 : Synthèse des dérivés pyrazolones **111a-c** / pyrazolopyrimidinones **111d-e** à partir des dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazides **108a-e**

Ces réactions, conduites dans les conditions indiquées, ont permis de mettre en évidence l'influence du substituant, porté par le cycle N-maléimide, sur les sites d'ouverture des dérivés **108** et, par conséquent, sur le cours de la réaction et de la structure de l'hétérocycle formé. En effet, la nature de R sur l'azote est à l'origine de la régiosélectivité observée pour ces réactions.

IV.1. Etude de la régiosélectivité des réactions des précurseurs 108a-e vis-à-vis l'acide acétique glacial en fonction de la nature du groupement R sur la maléimide

Il s'agissait d'effectuer une réaction en utilisant deux séries de précurseurs **108**, l'une portant des groupements aliphatiques **108a-c**, l'autre des groupements aromatiques **108d-e**. Le traitement de ces réactifs dans l'acide acétique glacial a donné deux voies mécanistiques avec une régiosélectivité qui dépend essentiellement de la nature des groupements R.

IV.1.1. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 108a-c où R= Aliphatique

Notre étude a débuté par la réaction des intermédiaires **108a-c**, portant des substituants aliphatique (R= CH₃, C₂H₅, C₆H₁₁) sur le cycle N-maléimide, vis-à-vis de l'acide acétique. Cela a engendré, avec de bon rendement, la formation de composés pyrazolones **111a-c** (Tableau 5).

IV.1.1.1. Mécanisme réactionnel des dérivés 111a-c

Les dérivés pyrazolones **111a-c** ont été obtenus via une attaque nucléophile (catalysée par les molécules d'acide acétique) de type Michael du groupe amino (NH₁), beaucoup plus nucléophile, du motif cyanoacétohydrazide sur l'atome de carbone (C₅), très électrophile, de la fonction nitrile, suivie d'une fermeture de cycle pour donner l'intermédiaire [B]. Le réarrangement par tautométrie de l'intermédiaire [B] fournit les composés **111a-c**. (Schéma 32)

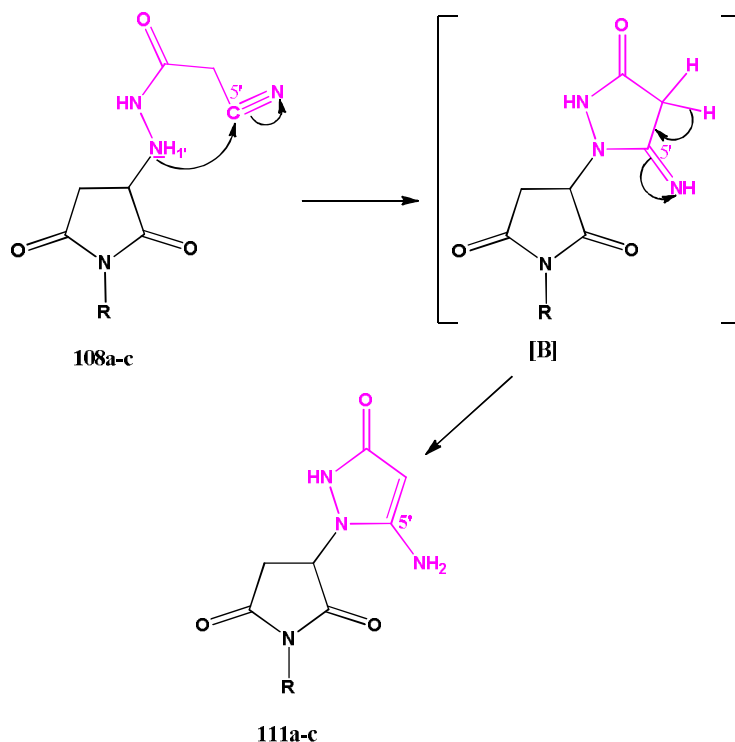


Schéma 32: Mécanisme proposé pour la synthèse des pyrazolones **111a-c**

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

IV.1.2. Action de l'acide acétique sur les intermédiaires 111d-e où R= Aromatique

En conduisant, cette fois-ci, la réaction précédente avec les précurseurs **108d-e** portant des groupements R aromatique sur le cycle N-maléimide dans les conditions réactionnelles précédemment utilisées, nous nous sommes aperçus que cette réaction conduisait avec une grande régiosélectivité à la formation des deux produits **111d** et **111e** (schéma 33), respectivement, avec 78% et 86% de rendement (Tableau 5).

IV.1.2.1. Mécanisme réactionnel des dérivés 111d-e

La formation des pyrazolopyrimidinones **111d-e** peut être formellement initiée par une attaque de l'azote nucléophile de l'unité cyanoacétohydrazide sur le carbone de la fonction nitrile, conformément à ce qui a été proposé dans le cas où R=aliphatique. La fonction imine qui en résulte dans [B'] attaque le groupe carbonyle du cycle maléimide provoquant l'ouverture du cycle maléimide. Cette séquence d'addition est suivie d'une électrocyclisation pour donner l'intermédiaire [B''], qui par tautomérie (intermédiaire [B''']) suivie d'un réarrangement donne son tautomère le plus stable de structure pyrazolopyrimidinone **111** (Schéma 33).

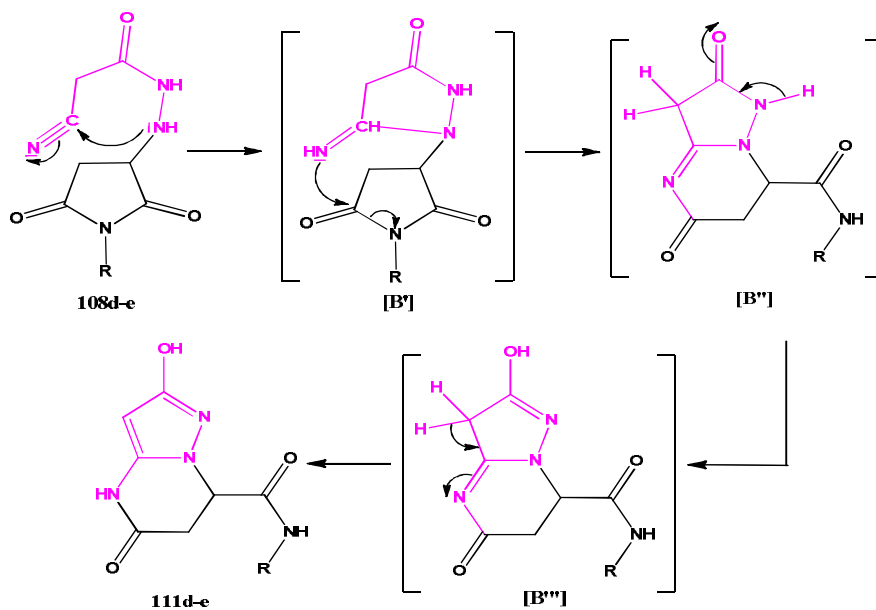


Schéma 33 : Mécanisme proposé pour la synthèse des pyrazolopyrimidinones **111d-e**

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

Les rendements obtenus ainsi que les caractéristiques physiques des dérivés **111** sont rassemblés dans le tableau **5** ci-dessous.

Tableau5 : Rendements et caractéristiques physiques des dérivés des pyrazolones (**111a-c**) et pyrazolopyrimidinones (**111d-e**).

Composé	R	Temps (h)	Rdt(%)	Pf °C
111a	CH ₃	1	81	204-205
111b	C ₂ H ₅	1	82	181-182
111c	C ₆ H ₁₁	3	60	199-200
111d	C ₆ H ₅	½	78	270-271
111e	Br-C ₆ H ₄	½	86	304-305

En examinant les résultats regroupés dans le tableau **5**, les rendements des produits synthétisés oscillent entre 78 et 86%, excepté pour le cas du composé **111c** où il n'est que de 60%. Le groupement cyclohexyl (R = C₆H₁₁) relativement encombré, la gêne stérique pourrait être à l'origine de cette légère baisse de rendement, ce qui est encore appuyé par le temps de la réaction plus long par rapport aux autres dérivés de la série.

Le meilleur rendement (86%) ayant été obtenu avec **111e** où un atome de brome se trouve en position para sur le cycle N-phényl-maléimide (R= Br-C₆H₄), ceci pourrait être expliqué par la présence du groupement attracteur (Br) par effet mésomère en position C-6' contribuant dans l'ensemble à la stabilité du dérivé obtenu et par là à l'augmentation du rendement de la réaction.

Quelques remarques peuvent être faites dans le cas de ces réactions. Tout d'abord, la régiosélectivité de la réaction semble être principalement gouvernée par la nature des groupements R porté par l'azote du cycle maléimide qui génère soit des pyrazolones (R = aliphatique) soit des pyrazolopyrimidinones (R = aromatique). Ces réactions sont aisées et les rendements sont dans tous les cas bons.

La molécule d'acide acétique, connue pour être un amphotère, catalyse les réactions en agissant simultanément comme donneur et accepteur de protons.

IV.2. Etude structurale des pyrazolones/pyrazolopyrimidinones 111ac/111d-e

IV.2.1. Etude par spectrométrie de masse

L'analyse des spectres de masse à haute résolution de tous les dérivés **111a-c** et **111d-e** révèle une forme cationique $[M+H]^+$ qui est en parfait accord avec les formules brutes correspondantes. Dans le tableau **6** nous résumons l'ensemble de ces résultats.

Tableau 6 : Spectrométrie de masse en ESI⁺-MS des composés **111a-c/ 111d-e**.

Produit	Formule brute	Ion	Masse exp.	Masse théor.
111a	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₃	$[M+H]^+$	211.0819	211.0826
		$[M+2H]^{2+}$	212.0849	212.0898
111b	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₃	$[M+H]^+$	225.0975	225.0982
		$[M+2H]^{2+}$	226.1003	226.1055
111c	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₃	$[M+H]^+$	279.1442	279.1452
		$[M+2H]^{2+}$	280.1469	280.1524
111d	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₃	$[M+H]^+$	273.0975	273.0982
		$[M+2H]^{2+}$	274.1003	274.1055
111e	C ₁₃ H ₁₁ BrN ₄ O ₃	$[M+H]^+$	351.0075	351.0087

IV.2.2. Etude par spectroscopie de RMN

IV.2.2.1. Etude par spectroscopie de RMN ¹H

Les spectres RMN ¹H des dérivés **111a-c**, enregistrés à 300 et 500 MHz dans le DMSO-d₆, indiquent la présence de tous les signaux spécifiques à chaque dérivé. On note particulièrement, par comparaison avec les précurseurs cyanoacétohydrazides **108**, l'absence des signaux correspondants au proton NH_{1'} et au proton du groupement éthylique (CH₂) en position 4' confirmant ainsi leur participation dans l'hétérocyclisation. Cette observation est appuyée par l'apparition des signaux correspondant au proton H-4' et au groupement amine primaire NH₂. Nous donnons à titre indicatif dans la figure **10** le spectre RMN ¹H du dérivé **111b** qui se caractérise par la présence de trois singulets : H-4' à δ = 4,52 ppm, 5'-NH₂ à δ = 5,72 ppm et 2'-NH à δ = 9,32 ppm attribués au cycle pyrazolone. Les signaux des protons du cycle maléimide sont apparus à δ = 2,71, 3,05 et 5,10 ppm pour H-a, H-b et H-x,

CHAPITRE I /Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

respectivement, et les protons du groupe éthyle à $\delta = 1,06$ et $3,42$ ppm pour CH_3 et CH_2 , respectivement.

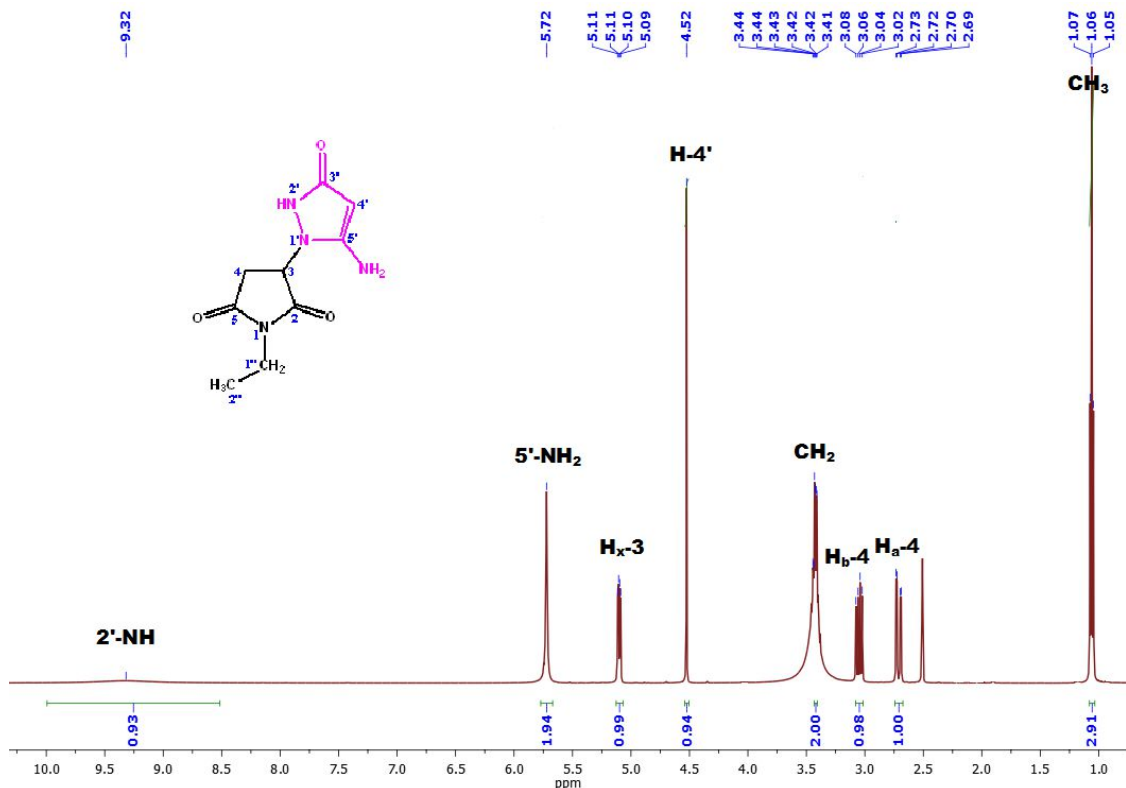


Figure 10 : Spectre de RMN ¹H du dérivé 111b

Les caractéristiques les plus importantes des spectres RMN ¹H du composé 111d (Figure 11) sont les suivantes: les pics à 5.88 et 9.77 ppm correspondant respectivement à NH_1 et NH_2 , dans la structure 108d sont absents dans la structure 111d.

Les deux pics à 3.62 et 3.67 ppm attribués à H_c et H_d (structure 108) sont absents et sont remplacés par un seul pic à 4.93 ppm attribué à $\text{H}-3$ (produit 111).

En outre, trois nouveaux pics sont apparus à 9.90, 10.39 et 10.65 ppm sous forme de singulets, le pic à 9.90 ppm est attribué au proton hydroxyle 2-OH du cycle pyrazolone issu de la transformation du groupement cétone en énol, tandis que les protons portés par les atomes d'azote résonnent à 10.39 et 10.65 ppm et correspondent respectivement aux 2'-NH et 4-NH.

Les protons du système de spin ABX H_a-6 , H_b-6 et H_x-7 (anciens H_a-4 , H_b-4 et H_x-3 dans la structure 108) sont légèrement blindés et se retrouvent à 2.71, 3.28 et 4.86 ppm, ils sont sous forme d'un doublet de doublets résultat du couplage entre eux.

CHAPITRE I /Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

Les protons aromatiques apparaissent entre 7.03 et 7.57 ppm et changent en fonction de la substitution sur le groupe aromatique considéré.

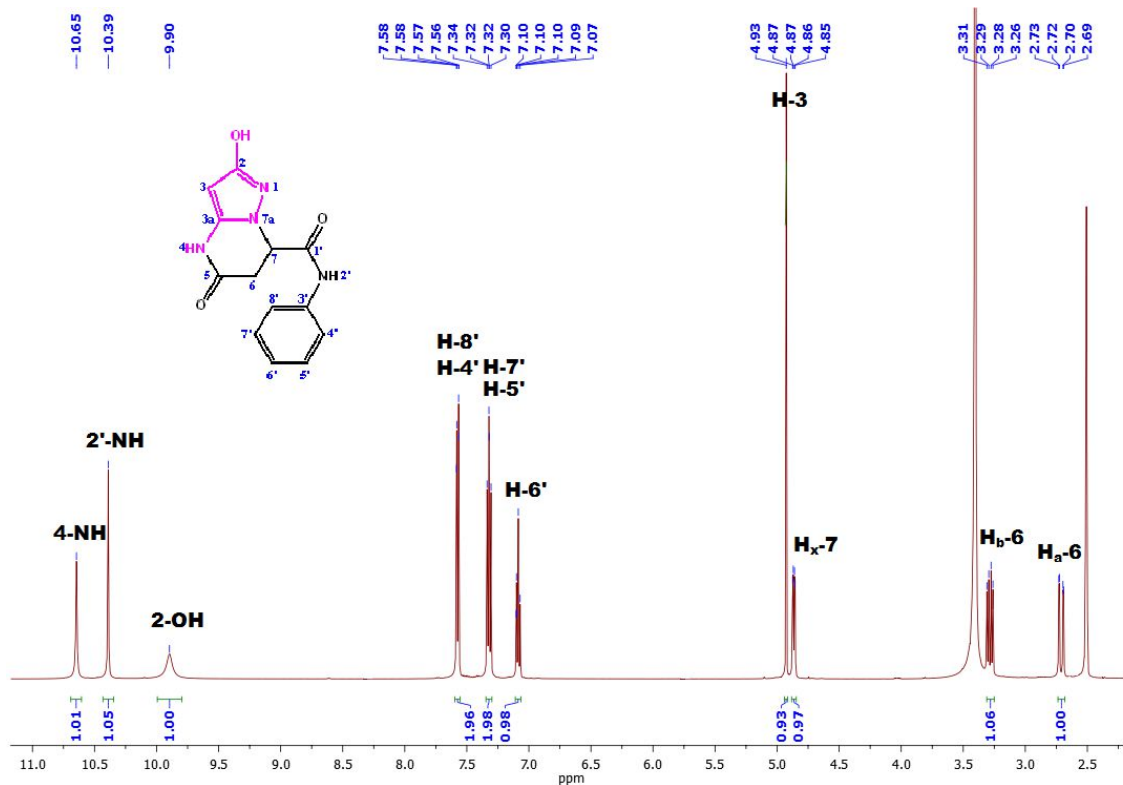


Figure 11 : Spectre de RMN ^1H du dérivé **111d**

IV.2.2.2. Etude par spectroscopie de RMN ^{13}C

L'étude des spectres RMN ^{13}C des dérivés **111** enregistrés dans le DMSO- d_6 à 75 MHz ont permis de relever les différents déplacements chimiques δ (ppm). Les résultats obtenus concordent bien avec ceux obtenus en RMN ^1H .

On observe une modification marquée entre les spectres des produits de départ **108** et ceux des produits obtenus **111** :

- dans les spectres **111a-c**, on relève la disparition des signaux entre 23.7 et 24.2 ppm correspondant au carbone CH_cH_d du fragment cyanoacétohydrazide (produit **108**) accompagné de l'apparition des signaux entre 75.69 et 75.86 ppm attribué au carbone secondaire en position 4'. On observe également la disparition des signaux dans l'intervalle 115.8 – 116.0 ppm caractéristiques du carbone du groupement nitrile CN qui est transformé en C-NH $_2$, sur le carbone C-5', résonnant entre 153.9 – 154.21 ppm.

CHAPITRE I/Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

- en revanche, les caractéristiques principales révélées dans les spectres RMN ^{13}C des produits de structure **111d-e** correspondent à la présence de deux nouveaux signaux aux environs de 76.29 -76.32 ppm et 161.67 - 161.70 ppm correspondant respectivement aux carbone C-3 et C-2. Alors que les carbone quaternaires de jonction C-3a des produits **111d** et **111e** apparaissent respectivement à 141.45 ppm et 141.44 ppm.

- les signaux du noyau aromatique sont observés entre les déplacements chimiques 115.56 et 138.39 ppm.

Ces attributions ont été confirmées par leurs corrélations HSQC et HMBC et fournissent des preuves convaincantes pour toute la série de ces dérivés.

IV.2.2.3. Étude par spectroscopie RMN 2D des produits 111b et 111d

Pour identifier et confirmer sans ambiguïtés la structure exacte des composés **111**, la RMN à 2D a été réalisée.

Le spectre HSQC nous a permis d'identifier tous les carbone protonés par corrélation entre le carbone et son proton à distance 1J . Tandis que les carbone non protonés ou carbone quaternaire sont identifiés par le spectre HMBC à distance 2J et 3J par corrélation avec les protons des carbone voisins.

Afin de mieux voir la différence entre la structure obtenue avec les produits **111a-c** et celle obtenue avec les produits **111d-e**, nous détaillons l'analyse en RMN 2D de **111b** et **111d**:

Le spectre HSQC de **111b** a montré tous les couplages $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ (1J) de ce produit, à savoir C-2" ($\delta\text{C} = 12.80$ ppm), C-1" ($\delta\text{C} = 33.21$ ppm), C-4 ($\delta\text{C} = 33.58$ ppm), C-3 ($\delta\text{C} = 54.22$ ppm), C-4' ($\delta\text{C} = 75.86$ ppm).

En outre, les connectivités trouvées dans les spectres de HMBC nous ont permis d'assigner les résonances des carbone quaternaires et de confirmer les affectations des carbone protonés où nous pouvons proposer les attributions suivantes : 33.21 ppm à C-1", 54.22 ppm à C-3, 154.21 ppm à C-5', 164,85 ppm à C-3' (forme cétone), 174.12 ppm à C-2 (forme dione) et 174.89 ppm à C-5 (forme dione). (**Figure 12**)

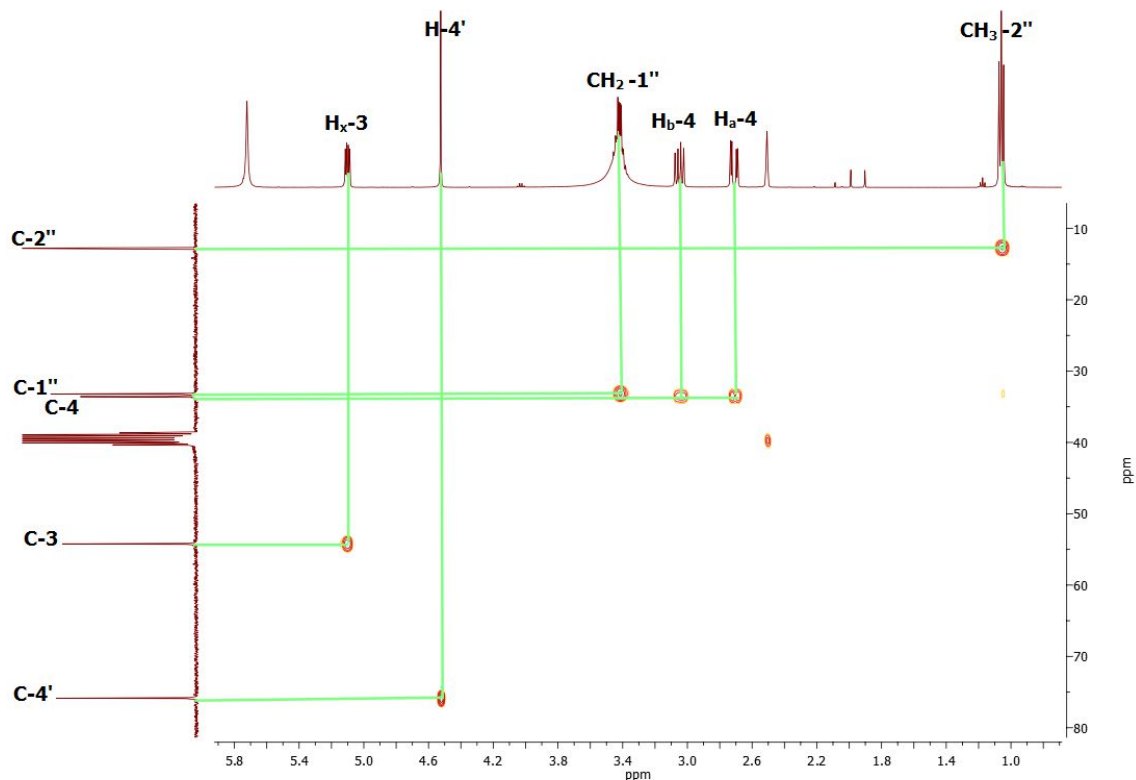


Figure 12 : Spectre HSQC du composé **111b**

Quant au produit **111d**, pour identifier sa structure nous avons fait appel aux spectres RMN 2D (HSQC et HMBC) qui nous ont été très utiles pour attribuer les différents signaux. En effet, les huit taches du spectre HSQC correspondent aux carbone protonés C-6 et C-7 à 33.96 et 56.90 ppm respectivement et C-3 à 27,4 ppm ainsi que les cinq autres carbone aromatiques protonés C-7' et C-5' à 128.90 ppm, C-6' à 123.92 ppm, C-8' et C-4' à 119,30 ppm. (Figure 13).

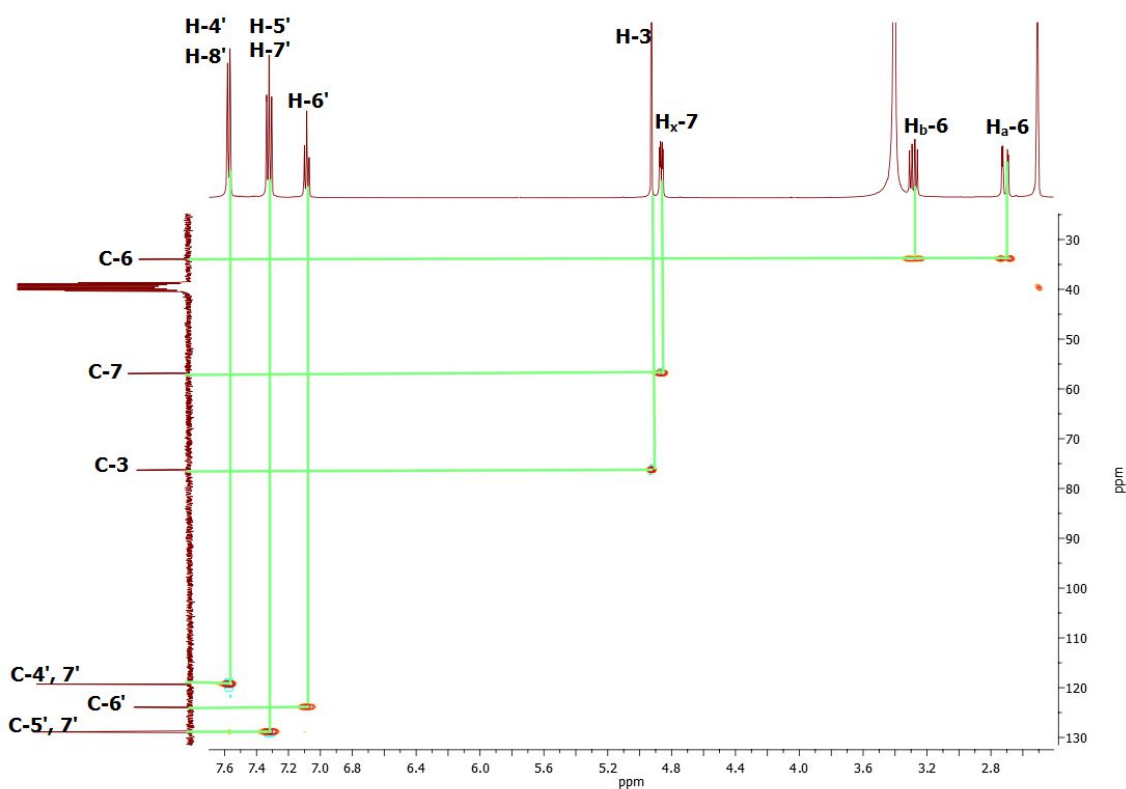


Figure 13 : Spectre HSQC du composé **111d**

Alors que, le spectre HMBC **111d** (Figure 13) a révélé des corrélations distinguables des carbone non protonés et quaternaires à distance 2J et 3J et a aussi confirmé l'attribution des carbone protonés, nous pouvons donc indexer C-3 à 76.29 ppm, C-3' à 138.39 ppm, C-3a à 141.45 ppm, C-2 à 161.67 ppm, C-5 (cétone) à 165.04 ppm et C-1' (cétone) à 167.61 ppm.

La figure 14 illustre les principales corrélations HMBC des dérivés **111b** et **111d**.

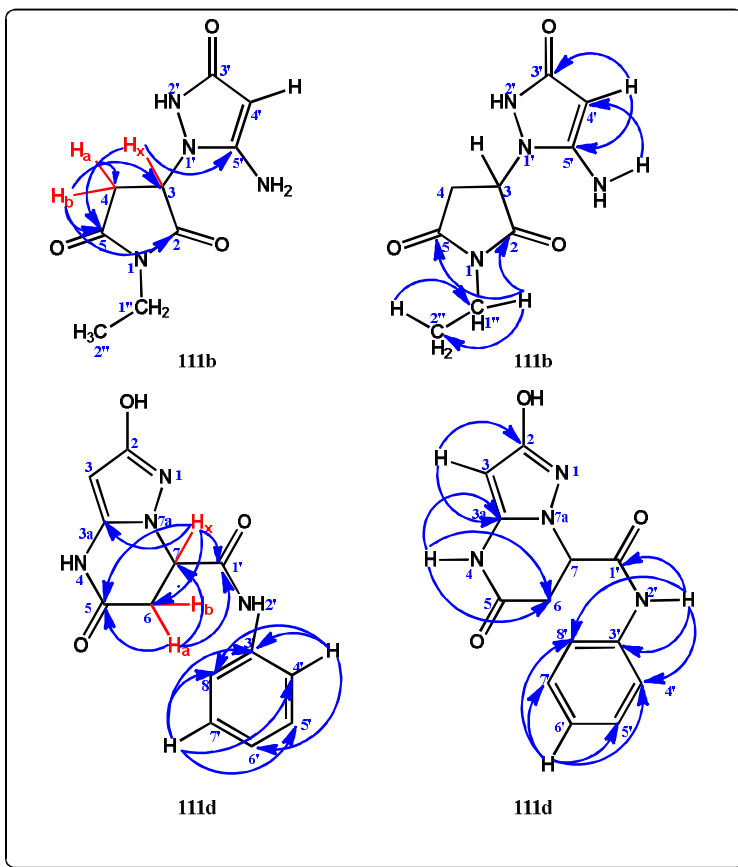


Figure 14 : Principales corrélations HMBC des composés **111b** et **111d**

IV.3. Analyse cristallographique des composés 111b et 111d

Des études de diffraction aux rayons X sur des monocristaux ont été déterminants dans l'élucidation des deux voies de synthèse régiosélective de pyrazolone **111b** et pyrazolopyrimidinones **111d**. La méthode d'obtention des monocristaux utilisée est la cristallisation par évaporation lente dans l'éthanol à 6 °C.

Les diagrammes ORTEP ont confirmé les formules **111b** et **111d** proposées (Figures **15** et **16**). Les données cristallographiques, les conditions d'enregistrement et les résultats issus des affinements pour ces deux produits (**111b** et **111d**) sont regroupés dans le tableau **7**.

CHAPITRE I /Partie B: Synthèse et étude structurale des dérivés pyrazolones, pyrazolopyrimidinones et pyrazolopyridinones

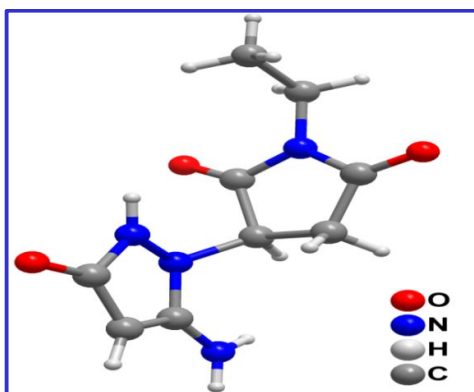


Figure 15 : Représentation ORTEP du composé **111b**

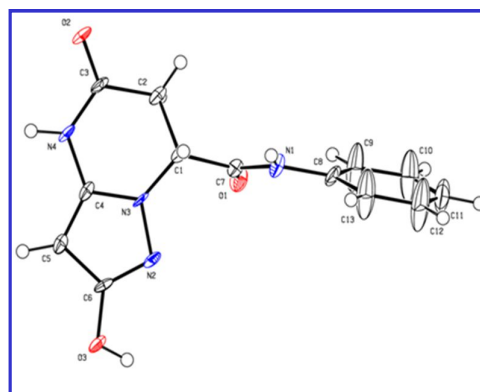


Figure 16 : Représentation ORTP du composé **111d**

Tableau 7 : Les données cristallographiques des composés **111b** et **111d**.

Caractéristiques	Composé 111b	Composé 111d
Paramètres structuraux		
Formule brute	C ₉ H ₁₂ N ₄ O ₃	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₃
Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	224.23	272.27
Densité calculée (g.cm ⁻³)	1.518	1.411
Coefficient d'absorption (mm ⁻¹)	0.11	0.104
Dimensions du cristal (mm ³)	0.140 x 0.110 x 0.090	0.220 x 0.120 x 0.040
Système cristallin	Monoclinique	Triclinique
Groupe spatial	P2 ₁ /c	P-1
Nombre de motif par maille Z	4	2
Paramètres cristallins	a = 9.1449 (13) Å b = 10.5211 (15) Å c = 11.3476 (16) Å α = 90 ° β = 93.993 (3) ° γ = 90 °	a = 4.6122(11) Å b = 10.756(3) Å c = 13.016(3) Å α = 95.852(5) ° β = 90.528(5) ° γ = 94.014(5) °
Volume	V = 1089.0(3) Å ³	V = 640.7(3) Å ³
Conditions d'enregistrement		
Température (K)	150(2) K	150(2) K
Angle (°)	2.637 à 25.446°.	3.818 à 25.340°
Réflexions mesurées	18904	7008
Conditions d'affinement		
Réflexions indépendantes	2010 [R(int) = 0.0174]	2257 [R (int) = 0.0556]
F (000) (e-/maille)	480	284
Facteur de reliabilité R (facteur d'accord)	R ₁ = 0.1263, wR ₂ = 0.4028	R ₁ = 0.1243, wR ₂ = 0.2489

V. Conclusion

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons décrit pour la première fois des séquences réactionnelles simples et efficaces de synthèse de trois nouvelles séries hétérocycliques à partir de la 2-cyano-N'-(2, 5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide **108**, qui s'est révélée être une matière première prometteuse pour accéder facilement à des dérivés hétérocycliques variés.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la condensation des précurseurs **108** avec les dérivés de la 3-formylchromone **109a-c** dans l'acide acétique glacial. En peu de temps et avec un procédé simple, nous avons obtenu une nouvelle série de pyrazolopyridinones **110a-k** avec des rendements bons à excellents.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié une méthode de synthèse très simple qui s'est avérée être efficace pour préparer les synthons **111** différemment substitués à partir des précurseurs **108a-e** en présence de l'acide acétique glacial. La structure des deux séries isolées et caractérisées **111a-c** et **111d-e**, nous a permis d'expliquer le cours de ces réactions. En effet, les résultats obtenus ont montré qu'une modification du groupement R pourrait entraîner de fortes variations en termes de réactivité et de régiosélectivité.

Les structures de tous les composés préparés ont été élucidées par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN ¹H, RMN¹³C, HRMS), et par l'utilisation de techniques d'analyse complémentaires telles que : HSQC, HMBC et NOESY. Des études de diffraction aux rayons X sur des monocristaux ont confirmé les différentes structures des produits obtenus.

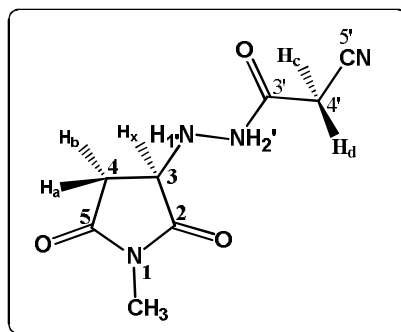
Partie Expérimentale

Les points de fusion des composés synthétisés ont été mesurés avec un appareil Büchi Melting Point B-540. Les analyses en chromatographie sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques de gel de silice de type 60 DGF254 (Merck) et éventuellement révélées sous une lampe UV. Les spectres RMN ont été enregistrés dans des solutions DMSO- d_6 sur un spectromètre Bruker Avance 300 (300,13 MHz pour 1H et 75,47 MHz pour ^{13}C) ou un spectromètre Bruker Avance 500 (500,13 MHz pour 1H et 125,77 MHz pour ^{13}C). Les déplacements chimiques (δ) sont rapportés en parties par million (ppm) et les constantes de couplage (J) en hertz (Hz); l'étalon interne est le tétraméthylsilane (TMS). Les signaux sont décrits comme s (singulet), d (doublet), dd (doublet de doublet), ddd (le double du doublet de doublet), t (triplet), et m (multiplet). Les attributions des ^{13}C sont réalisées en utilisant les couplages à 2D, J C/H à longue distance (HSQC et HMBC) et JH/H (NOESY). Les spectres de masse ont été obtenus par l'analyse à haute résolution en electrospray (ESI⁺-MS) en mode positif. Tous les produits chimiques et solvants utilisés ont été obtenus auprès de sources commerciales (Sigma-Aldrich).

I. Procédé général de la synthèse des précurseurs 108a-e

Dans un ballon de 100 ml, (1 équivalent, 1 mmol) des dérivés de la maléimide **107a-e** a été ajouté à (1 équivalent, 1 mmol) de l'acide cyano acétohydrazide **111** dans 10 ml d'éthanol. La réaction a été maintenue à reflux sous agitation pendant 6 heures. L'évolution de toutes les réactions a été suivie par la chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant comme éluant un mélange d'acétate d'éthyle et de chloroforme. La fin des réactions est signifiée par la présence d'une seule tache sur chromatographie sur couche mince. Après refroidissement, le précipité a été filtré et le solide résultant a été recristallisé dans l'éthanol pour donner les composés **108a-e**.

2-cyano-N'-(1-méthyl-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide (108a)



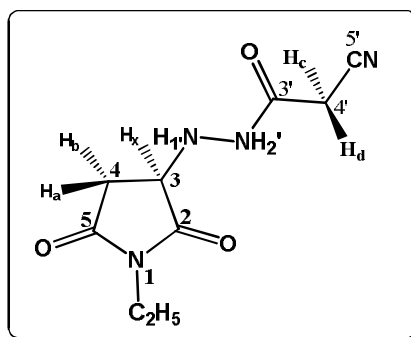
$C_8H_{10}N_4O_3$: Solide blanc, Rdt : 73% ; Pf : 121-122 °C.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.69 (d, 3J = 5.5 Hz, 1H, H_2), 5.78 (m, 2H, H_1), 4.08-3.99 (m, 2H, H_x), 3.63 (d, 2J = 18.0 Hz, 1H, H_c), 3.58 (d, 2J = 18.0 Hz, 1H, H_d), 2.87-2.75 (m, 4H, H_b et CH_3), 2.54 (dd, 2J = 18.0 et 3J = 4.0 Hz, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 176.3 (5-C=O), 175.5 (2-C=O), 162.0 (3'-C=O), 116.0 (C-5'), 57.7 (C-3), 33.7 (C-4), 24.2 (C-4'), 23.5 (CH_3).

HRMS: m/z calculé pour $[C_8H_{10}N_4O_3+Na]^+$: 233.0651; trouvé: 233.0651.

2-cyano-N'-(1-éthyl-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide (108b)



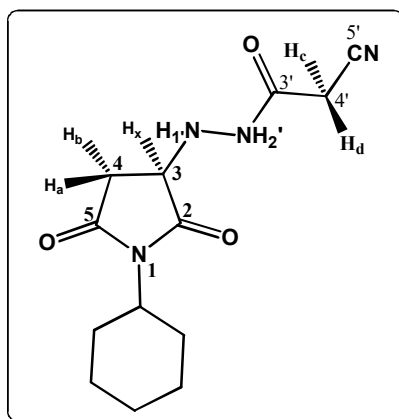
$C_9H_{12}N_4O_3$: Solide blanc, Rdt : 51% ; Pf : 99-100 °C.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.78 (s, 1H, H_2), 5.79 (m, 1H, H_1), 4.15 (dd, 3J = 8.0 et 4.0 Hz, 1H, H_x), 3.65 (d, 2J = 18.0 Hz, 1H, H_d), 3.58 (d, 2J = 18.0 Hz, 1H, H_c), 3.40 (q, 3J = 7.0 Hz, 2H, $CH_2(Et)$), 2.82 (dd, 2J = 18.0 et 3J = 8.0 Hz, 1H, H_b), 2.40 (dd, 2J = 18.0 et 3J = 4.0 Hz, 1H, H_a), 1.02 (t, 3J = 7.0 Hz, 3H, $CH_3(Et)$).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 176.0 (5-C=O), 175.2 (2-C=O), 167.3 (3'-C=O), 115.8 (C-5'), 57.1 (C-3), 33.8 ($CH_2(Et)$), 32.8 (C-4), 23.7 (C-4'), 12.6 ($CH_3(Et)$).

HRMS: m/z calculé pour $[C_9H_{12}N_4O_3+Na]^+$: 247.0808 ; trouvé : 247.0807.

2-cyano-N'-(1-cyclohexyl-2,5-dioxypyrrolidin-3-yl) acétohydrazide (108c)



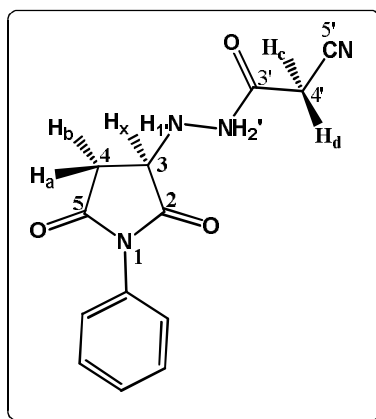
$C_{13}H_{18}N_4O_3$: Solide blanc, Rdt : 62 % ; Pf : 156-157 °C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.67 (t, J = 11.6 Hz, 1H, H_2), 5.69 (s, 1H, H_1), 3.94 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H_x), 3.62 (d, J = 18.3 Hz, 1H, H_d), 3.56 (d, J = 18.3 Hz, 1H, H_c), 2.80 (dd, J = 17.3 et 8.0 Hz, 1H, H_b), 2.43 (dd, J = 17.9 et 4.1 Hz, 1H, H_a), 2.09-1.92 (m, 2H, $CH_{cyclohexyl}$), 1.76 (d, J = 12.7 Hz, 2H, $CH_{cyclohexyl}$), 1.64-1.50 (m, 3H, $CH_{cyclohexyl}$), 1.36 -1.03 (m, 4H, $CH_{cyclohexyl}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 176.28 (5-C=O), 175.44 (2-C=O), 162.00 (3'-C=O), 115.83 (C-5'), 75.80 ($C_{cyclohexyl}$), 56.65 (C-3), 33.70 (C-4), 28.51 - 28.42 - 25.34 - 24.87 ($C_{cyclohexyl}$), 23.78 (C-4').

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{13}H_{18}N_4O_3+H]^+$: 279.1452; trouvé: 279.1442.

2-cyano-N'-(2,5-dioxo-1-phénylpyrrolidin-3-yl) acétohydrazide (108d)



$C_{13}H_{12}N_4O_3$: Solide blanc, Rdt : 55 % ; Pf : 179-180 °C.

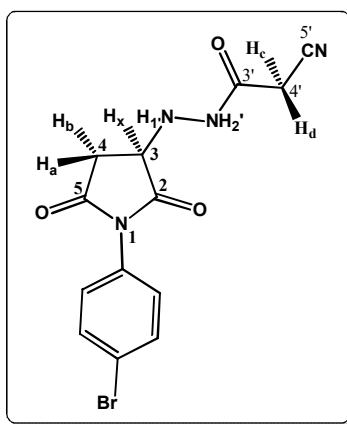
CHAPITRE I / Partie expérimentale

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.77 (d, $^3J = 5.0$ Hz, 1H, H_2), 7.53-7.25 (m, 5H, H_{arom}), 5.88 (m, 1H, H_1), 4.17 (dd, $^3J = 8.0$ et 4.0 Hz, 1H, H_x), 3.67 (d, $^2J = 18.0$ Hz, 1H, H_d), 3.62 (d, $^2J = 18.0$ Hz, 1H, H_c), 3.05 (dd, $^2J = 18.0$ et $^3J = 8.0$ Hz, 1H, H_b), 2.69 (dd, $^2J = 18.0$ et $^3J = 4.0$ Hz, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 175.4 (5-C=O), 174.6 (2-C=O), 162.1 (3'-C=O), 132.2-128.8-128.2-127.0 (CH_{arom}), 116.4 (C-5'), 57.4 (C-3), 34.0 (C-4), 23.8 (C-4').

HRMS: m/z calculé pour $[\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3+\text{Na}]^+$: 295.0811; trouvé : 295.0807.

N'-(1-(4-bromophényl)-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-2-cyanoacétohydrazide (108e)



$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_4\text{O}_3$: Solide blanc, Rdt : 59 % ; Pf : 209-210 °C.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.79 (s, 1H, H_2), 7.88 – 7.12 (m, 4H, H_{arom}), 5.82 (t, $J = 28.5$ Hz, 1H, H_1), 4.17 (dd, $J = 8.6$ et 4.4 Hz, 1H, H_x), 3.66 (d, $J = 18.3$ Hz, 1H, H_d), 3.62 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H, H_c), 3.02 (dd, $J = 17.9$ et 8.6 Hz, 1H, H_b), 2.69 (dd, $J = 17.9$ et 4.4 Hz, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 175.28 (5-C=O), 174.40 (2-C=O), 162.14 (3'-C=O), 116.48 (C-5'), 57.59 (C-3), 34.10 (C-4), 23.89 (C-4').

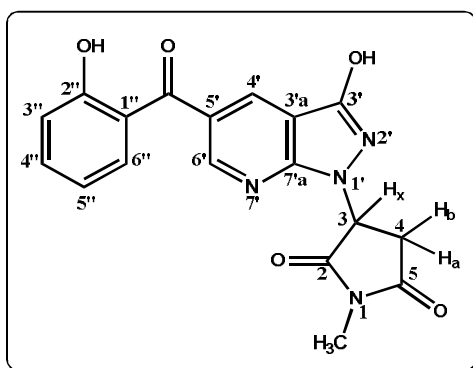
HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 351.0087; trouvé: 351.0076.

II. Procédé général de la synthèse des pyrazolopyridinones 110a-k

Dans un ballon de 100 ml, nous introduisons un mélange de composés **108a-e** (1 équivalent, 1 mmol), des dérivés 3-formylchromone **109a-c** (1 équivalent, 1 mmol) et d'une quantité catalytique d'acétate d'ammonium (en excès) dans 3 ml d'acide acétique glacial. La réaction a été maintenue à reflux sous agitation magnétique pendant 15 à 50 minutes, la fin de la réaction est suivie par CCM. Après refroidissement, le mélange réactionnel a été versé dans

de l'eau glacée; le solide formé a été récupéré par filtration sous vide ensuite purifié par recristallisation dans un mélange d'hexane -dichlorométhane pour donner les produits **110a-k** analytiquement purs.

3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxybenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-méthylpyrrolidine-2,5-dione (110a):



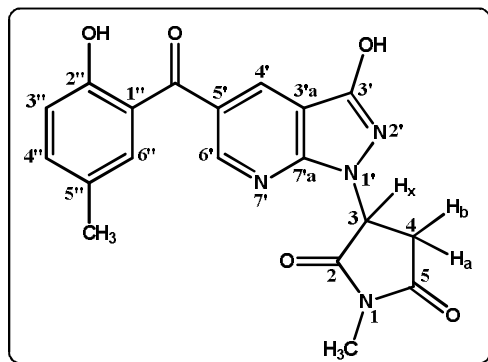
C₁₈H₁₄N₄O₅: Solide jaune, Rdt : 74 % ; Pf : 235-236°C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.84 (s, 1H, 3'-OH), 10.32 (s, 1H, 2''-OH), 8.87 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.59-7.35 (m, 2H, H-4'', H-6''), 7.10-6.87 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.04 (dd, *J* = 9.3 et 4.8 Hz, 1H, H_x-3), 3.36-3.28 (m, 1H, H_b-4), 3.07-2.98 (m, 1H, H_a-4), 2.95 (s, 3H, 1-CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 194.66 (C=O), 174.85 (5-C=O), 174.16 (2-C=O), 156.23 (C-2''), 155.26 (C-3'), 151.82 (C-7'a), 151.22 (C-6'), 133.27 (C-4''), 132.14 (C-4'), 130.33 (C-6''), 126.29 (C-5'), 125.13 (C-1''), 119.44 (C-5''), 116.73 (C-3''), 104.80 (C-3'a), 53.67 (C-3), 34.44 (C-4), 24.84 (1-CH₃).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₁₈H₁₄N₄O₅+H]⁺: 367.1037; trouvé: 367.1033.

3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxy-5-méthylbenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-méthylpyrrolidine-2,5-dione (110b):



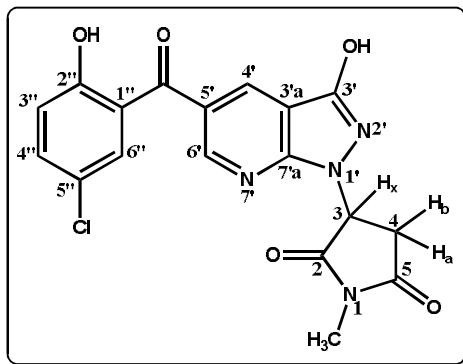
$C_{19}H_{16}N_4O_5$: Cristaux incolores, Rdt : 80 % ; Pf : 154-155°C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 11.81 (s, 1H, 3'-OH), 10.06 (s, 1H, 2''-OH), 8.90 – 8.81 (m, 1H, H-6'), 8.42 (dd, J = 13.0 et 2.3 Hz, 1H, H-4'), 7.31 – 7.25 (m, 1H, H-4''), 7.22 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-6''), 6.89 (dd, J = 13.1 et 6.7 Hz, 1H, H-3''), 6.03 (dd, J = 9.3 et 4.8 Hz, 1H, H_x-3), 3.31 (dd, J = 11.6 et 6.3 Hz, 1H, H_b-4), 3.01 (dd, J = 12.0 et 5.9 Hz, 1H, H_a-4), 2.95 (s, 3H, 1-CH₃), 2.27 (s, 3H, 5''-CH₃).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 194.68 (C=O), 174.82 (5-C=O), 174.13 (2-C=O), 155.20 (C-3'), 154.03 (C-2''), 151.76 (C-7'a), 151.19 (C-6'), 133.87 (C-4''), 133.19 (C-4'), 130.21 (C-6''), 128.10 (C-5''), 126.35 (C-5'), 124.79 (C-1''), 116.64 (C-3''), 104.75 (C-3'a), 53.62 (C-3), 34.43 (C-4), 24.80 (1-CH₃), 19.92 (5''-CH₃).

HRMS-ESI⁺: m/z calculé pour $[C_{19}H_{16}N_4O_5+H]^+$: 381.1193; trouvé: 381.2965.

3-(5-(5-chloro-2-hydroxybenzoyl)-3-hydroxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-méthylpyrrolidine-2,5-dione (110c):



$C_{18}H_{13}ClN_4O_5$: Solide jaune, Rdt : 85 % ; Pf : 258 – 259°C.

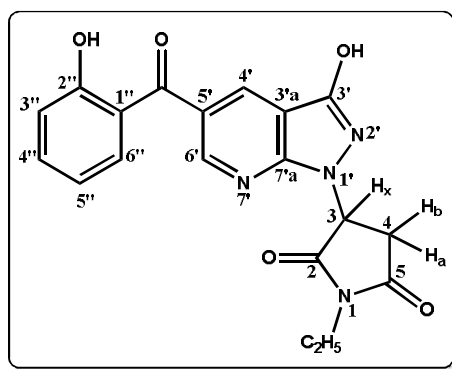
CHAPITRE I / Partie expérimentale

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.89 (s, 1H, 3'-OH), 10.52 (s, 1H, 2''-OH), 8.86 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.48 (dd, *J* = 8.7 et 2.7 Hz, 1H, H-4''), 7.41 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-3''), 7.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-6''), 6.02 (dd, *J* = 9.3 et 4.8 Hz, 1H, H_x-3), 3.33 (dd, *J* = 17.9 et 9.3 Hz, 1H, H_b-4), 3.02 (dd, *J* = 17.9 et 4.8 Hz, 1H, H_a-4), 2.94 (s, 3H, 1-CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 192.93 (C=O), 174.98 (5-C=O), 174.25 (2-C=O), 155.41 (C-3'), 154.49 (C-2''), 151.95 (C-7'a), 151.39 (C-6'), 133.57 (C-4'), 132.43 (C-4''), 129.17 (C-3''), 127.39 (C-1''), 125.93 (C-5'), 123.16 (C-5''), 118.55 (C-6''), 105.00 (C-3'a), 53.79 (C-3), 34.48 (C-4), 24.95 (1-CH₃).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculée pour [C₁₈H₁₃ClN₄O₅+H]⁺ 401.0647; trouvée: 401.0639.

1-éthyl-3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxybenzoyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)pyrrolidine-2,5-dione (110d):



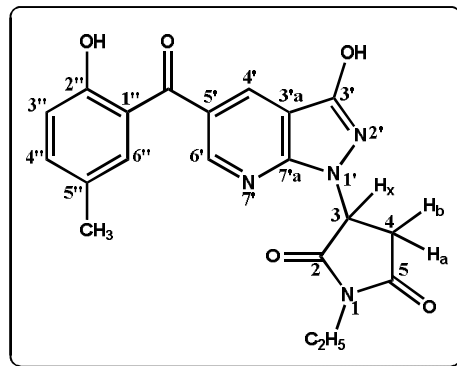
C₁₉H₁₆N₄O₅: Solide jaune, Rdt : 74 % ; Pf : 207- 208°C.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ(ppm) = 11.84 (s, 1H, 3'-OH), 10.34 (s, 1H, 2''-OH), 8.86 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.55 – 7.32 (m, 2H, H-4'', H-6''), 7.11- 6.89 (m, 2H, H-5'', H-3''), 6.04 (dd, *J* = 9.3 et 4.8 Hz, 1H, H_x-3), 3.53 – 3.49 (m, 2H, CH₂(Et)), 3.32 (dd, *J* = 17.9 et 9.4 Hz, 1H, H_b-4), 3.01 (dd, *J* = 17.9 et 4.8 Hz, 1H, H_a-4), 1.11 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃(Et)).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 194.70 (C=O), 174.61 (5-C=O), 173.91 (2-C=O), 156.24 (C-2''), 155.30 (C-3'), 151.84 (C-7'a), 151.21 (C-6'), 133.29 (C-4''), 132.61 (C-4'), 130.35 (C-6''), 126.29 (C-5'), 125.16 (C-1''), 119.47 (C-3''), 116.75 (C-5''), 104.86 (C-3'a), 53.66 (C-3), 34.43 (C-4), 33.51 (CH₂(Et)), 12.74 (CH₃(Et)).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₁₉H₁₆N₄O₅+H]⁺: 381.1193; trouvé: 381.1183.

1-éthyl-3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxy-5-méthylbenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)pyrrolidine-2,5-dione (110e):



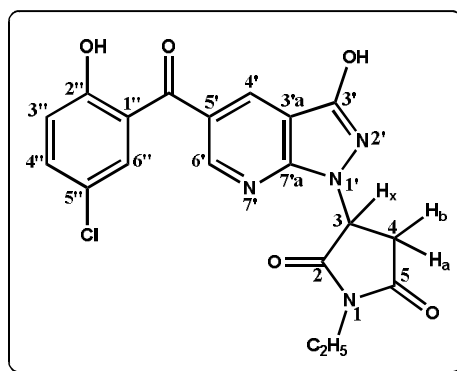
$C_{20}H_{18}N_4O_5$: Cristaux incolores, Rdt : 91 %; Pf : 187 – 188 °C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 11.81 (s, 1H, 3'-OH), 10.07 (s, 1H, 2''-OH), 8.85 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-6'), 8.45 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-4'), 7.28 (dd, $J = 8.3$ et 1.9 Hz, 1H, H-4''), 7.22 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-6''), 6.91 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-3''), 6.04 (dd, $J = 9.3$ et 4.9 Hz, 1H, H_x -3), 3.51 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2 (Et)), 3.34 – 3.27 (m, 1H, H_b -4), 3.01 (dd, $J = 17.9$ et 4.9 Hz, 1H, H_a -4), 2.26 (s, 3H, 5''- CH_3), 1.12 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH_3 (Et)).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 194.72 (C=O), 174.56 (5-C=O), 173.87 (2-C=O), 155.22 (C-3'), 154.07 (C-2''), 151.79 (C-7'a), 151.18 (C-6'), 133.90 (C-4''), 133.20 (C-4'), 130.24 (C-6''), 128.13 (C-1''), 126.36 (C-5'), 124.79 (C-5''), 116.67 (C-3''), 104.79 (C-3'a), 53.61 (C-3), 34.42 (C-4), 33.47 (CH_2 (Et)), 19.93 (5''- CH_3), 12.71 (CH_3 (Et)).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{20}H_{18}N_4O_5+H]^+$: 395.1350; trouvé: 395.1343.

3-(5-(5-chloro-2-hydroxybenzoyl)-3-hydroxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-éthylpyrrolidine-2,5-dione (110f):



$C_{19}H_{15}ClN_4O_5$: Solide jaune, Rdt : 81 %; Pf : 125 – 126 °C.

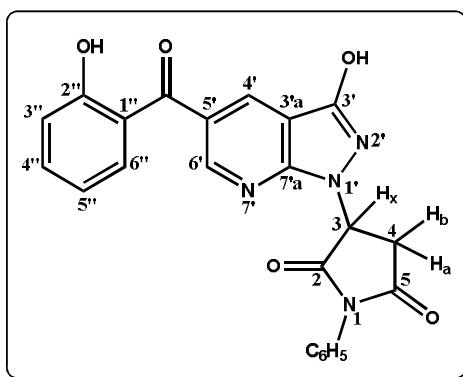
CHAPITRE I / Partie expérimentale

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.84 (s, 1H, 3'-OH), 10.45 (s, 1H, 2''-OH), 8.87 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.48 (dd, *J* = 8.7 et 2.7 Hz, 1H, H-4''), 7.42 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-6''), 7.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-3''), 6.04 (dd, *J* = 9.3 et 4.9 Hz, 1H, H_x-3), 3.51 (dd, *J* = 14.4 et 7.1 Hz, 2H, CH₂(Et)), 3.35 – 3.26 (m, 1H, H_b-4), 3.01 (dd, *J* = 17.9 et 4.9 Hz, 1H, H_a-4), 1.12 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃(Et)).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 192.76 (C=O), 174.54 (5-C=O), 173.83 (2-C=O), 155.29 (C-3'), 154.39 (C-2''), 151.84 (C-7'a), 151.22 (C-6'), 133.48 (C-4'), 132.27 (C-4''), 129.06 (C-6''), 127.32 (C-1''), 125.78 (C-5'), 123.01 (C-5''), 118.45 (C-3''), 104.88 (C-3'a), 53.64 (C-3), 34.40 (C-4), 33.47 (CH₂(Et)), 12.71 (CH₃(Et)).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₁₉H₁₅ClN₄O₅+H]⁺ 415.0804; trouvé: 415.0794.

3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxybenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-phénylpyrrolidine-2,5-dione (110g):



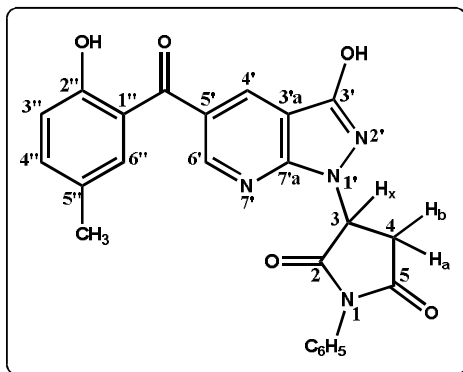
C₂₃H₁₆N₄O₅: Solide jaune, Rdt : 89 % ; Pf : 259-260 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.89 (s, 1H, 3'-OH), 10.34 (s, 1H, 2''-OH), 8.92 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.60 – 7.52 (m, 2H, H_{arom}), 7.51 – 7.42 (m, 3H, H-4'', H-6'', H_{arom}), 7.41 – 7.30 (m, 2H, H_{arom}), 7.01 (dd, *J* = 14.3 et 7.6 Hz, 2H, H-3'', H-5''), 6.23 (dd, *J* = 9.4 et 5.3 Hz, 1H, H_x-3), 3.52 (dd, *J* = 17.9 et 9.4 Hz, 1H, H_b-4), 3.27 (dd, *J* = 17.9 et 5.3 Hz, 1H, H_a-4).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 194.68 (C=O), 173.82 (5-C=O), 173.31 (2-C=O), 156.26 (C-2''), 155.35 (C-3'), 151.88 (C-7'a), 151.28 (C-6'), 133.36 (C-4''), 133.28 (C-4'), 132.10 (C_{arom}), 130.36 (C-6''), 129.18-128.71-126.90 (C_{arom}), 126.37 (C-5'), 125.12 (C-1''), 119.44 (C-5''), 116.75 (C-3''), 104.96 (C-3'a), 54.07 (C-3), 34.64 (C-4).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₂₃H₁₆N₄O₅+H]⁺ 429.1193; trouvé: 429.1182.

3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxy-5-méthylbenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-phénylpyrrolidine-2,5-dione (110h):



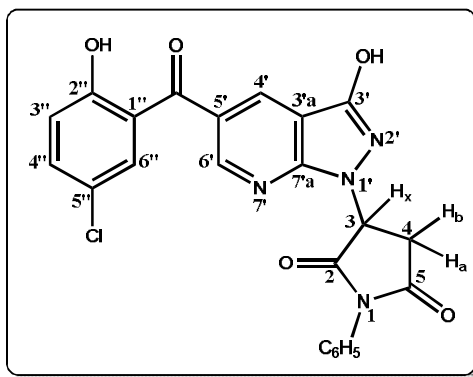
$C_{24}H_{18}N_4O_5$: Solide jaune, Rdt : 87 % ; Pf : 236 - 237 °C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 11.88 (s, 1H, 3'-OH), 10.10 (s, 1H, 2''-OH), 8.90 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-6'), 8.49 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H-4'), 7.55-7.32 (m, 5H, H_{arom}), 7.28 (dd, $J = 8.3$ et 1.9 Hz, 1H, H-4''), 7.24 (s, 1H, H-6''), 6.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-3''), 6.23 (dd, $J = 9.3$ et 5.2 Hz, 1H, H_x -3), 3.58 – 3.50 (m, 1H, H_b -4), 3.27 (dd, $J = 17.9$ et 5.3 Hz, 1H, H_a -4), 2.27 (s, 3H, 5''-CH $_3$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 194.76 (C=O), 173.84 (5-C=O), 173.33 (2-C=O), 155.34 (C-3'), 154.12 (C-2''), 151.88 (C-7'a), 151.29 (C-6'), 133.94 (C-4''), 133.30 (C-4'), 132.10 (C_{arom}), 130.28 (C-3''), 129.19-128.73 (C_{arom}), 128.16 (C-1''), 126.91 (C_{arom}), 126.47 (C-5'), 124.80 (C-5''), 116.70 (C-6''), 104.95 (C-3'a), 54.06 (C-3), 34.65 (C-4), 19.95 (5''-CH $_3$).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{24}H_{18}N_4O_5+H]^+$ 443.1350; trouvé: 443.1336.

3-(5-(5-chloro-2-hydroxybenzoyl)-3-hydroxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)-1-phénylpyrrolidine-2,5-dione (110i):



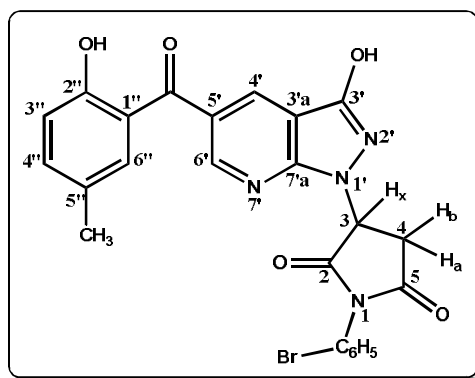
$C_{23}H_{15}ClN_4O_5$: Solide jaune, Rdt : 90 % ; Pf : 258 – 259 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.90 (s, 1H, 3'-OH), 10.46 (s, 1H, 2''-OH), 8.91 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.59-7.42 (m, 5H, H_{arom}), 7.38- 7.29 (m, 2H, H-4'', H-3''), 7.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H-6''), 6.21 (dd, *J* = 9.4 et 5.3 Hz, 1H, H_x-3), 3.51 (dd, *J* = 17.9 et 9.4 Hz, 1H, H_b-4), 3.26 (dd, *J* = 17.9 et 5.3 Hz, 1H, H_a-4).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 192.76 (C=O), 173.78 (5-C=O), 173.25 (2-C=O), 155.37 (C-3'), 154.39 (C-2''), 151.88 (C-7'a), 151.29 (C-6'), 133.55 (C-4'), 132.27 (C-4''), 132.07-129.16-129.06-128.70 (C_{arom}), 127.31 (C-1''), 126.88 (C-3''), 125.86(C-5'), 123.01 (C-5''), 118.45 (C-6''), 105.00 (C-3'a), 54.07 (C-3), 34.60 (C-4).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₂₃H₁₅ClN₄O₅+H]⁺ 463.0804; trouvé: 463.0801.

1-(4-bromophényl)-3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxy-5-méthylbenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)pyrrolidine-2,5-dione (110j):



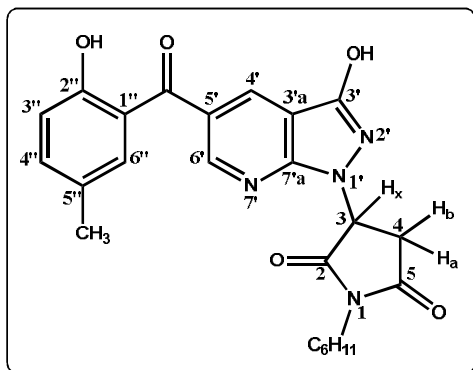
C₂₄H₁₇BrN₄O₅: Solide jaune, Rdt : 69 % ; Pf : 254-255 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.86 (s, 1H, 3'-OH), 10.07 (s, 1H, 2''-OH), 8.89 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.80-7.72 (m, 4H, H_{arom}), 7.30- 7.20 (m, 2H, H-6'', H-4''), 6.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3''), 6.19 (dd, *J* = 9.3 et 5.3 Hz, 1H, H-3), 3.51 (dd, *J* = 18.0 et 9.4 Hz, 1H, H_b-4), 3.26 (dd, *J* = 18.0 et 5.3 Hz, 1H, H_a-4), 2.27 (s, 3H, 5''-CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 194.68 (C=O), 173.52 (5-C=O), 173.04 (2-C=O), 155.27 (C-3'), 154.03 (C-2''), 151.82 (C-7'a), 151.25 (C-6'), 133.88 (C-4'), 133.29 (C-4''), 132.21-131.28 (C_{arom}), 130.22 (C-6''), 128.90 (C_{arom}), 128.12 (C-5''), 126.46 (C-5'), 124.80 (C-1''), 121.67 (C_{arom}), 116.65 (C-3''), 104.92 (C-3'a), 54.05 (C-3), 34.60 (C-4), 19.92 (5''-CH₃).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₂₄H₁₇BrN₄O₅+H]⁺ 521.0455; trouvé: 521.0444.

1-(4-cyclohexylphényl)-3-(3-hydroxy-5-(2-hydroxy-5-méthylbenzoyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)pyrrolidine-2,5-dione (110k):



C₂₄H₂₄N₄O₅: Solide jaune, Rdt : 66 % ; Pf : 196-197 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.78 (s, 1H, 3'-OH), 10.05 (s, 1H, 2''-OH), 8.84 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-6'), 8.44 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.28 (dd, *J* = 8.3 et 1.8 Hz, 1H, H-4''), 7.21 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-6''), 6.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3''), 5.98 (dd, *J* = 9.4 et 5.0 Hz, 1H, H-3), 3.97 – 3.85 (m, 1H, H_{cyclohexyl}), 3.29 – 3.22 (m, 1H, H_b-4), 2.98 (dd, *J* = 17.8 et 5.1 Hz, 1H, H_a-4), 2.27 (s, 3H, 5''-CH₃), 2.08 – 1.07 (m, 10H, H_{cyclohexyl}).

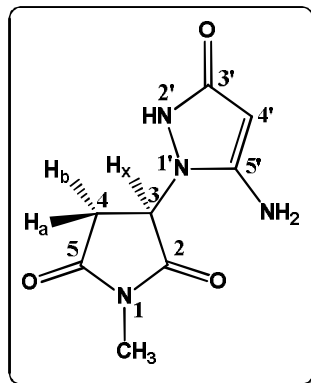
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 194.67 (C=O), 174.63 (5-C=O), 173.97 (2-C=O), 155.09 (C-3'), 153.99 (C-2''), 151.73 (C-7'a), 151.09 (C-6'), 133.83 (C-4''), 133.16 (C-4'), 130.18 (C-6''), 128.09 (C-5''), 126.29 (C-5'), 124.82 (C-1''), 116.63 (C-3''), 104.74 (C-3'a), 53.32 (C-3), 51.18 (C_{cyclohexyl}), 34.19 (C-4), 28.50-28.33-25.72-25.30-24.83 (C_{cyclohexyl}), 19.91 (5''-CH₃).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₂₄H₂₄N₄O₅+H]⁺:449,1819; trouvé: 449.1808.

III. Procédé général de la synthèse des pyrazolones 111a-c et pyrazolopyrimidinones 111d-e

1 mmol des précurseurs **108a-e** sont mis à réagir à reflux dans 2 ml d'acide acétique glacial pendant (1 à 2 heures), la fin de la réaction est surveillée par CCM. Les composés purs **111a-c** et **111d-e** ont été obtenus après évaporation de l'acide acétique puis recristallisation dans l'acétate d'éthyle.

3-(5-amino-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-1-méthylpyrrolidine-2,5-dione
(111a)



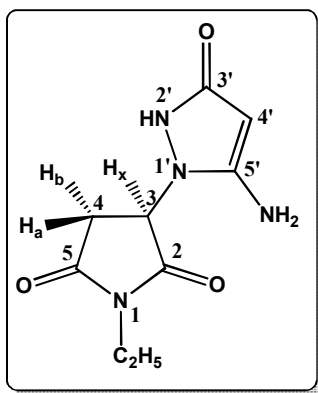
$C_8H_{10}N_4O_3$: Solide jaune, Rdt : 81 % ; Pf : 204-205 °C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.41 (s, 1H, 2'-NH), 5.71 (s, 2H, 5'-NH $_2$), 5.11 (dd, J = 9.0 et 4.1 Hz, 1H, H $_x$ -3), 4.52 (s, 1H, H-4'), 3.05 (dd, J = 17.8 et 9.0 Hz, 1H, H $_b$ -4), 2.90 – 2.82 (m, 3H, 1-CH $_3$), 2.70 (dd, J = 17.9 et 4.1 Hz, 1H, H $_a$ -4).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 175.18 (5-C=O), 174.38 (2-C=O), 164.59 (3'-C=O), 153.90 (C-5'), 75.69 (C-4'), 54.25 (C-3), 33.73 (C-4), 24.56 (1-CH $_3$).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_8H_{10}N_4O_3+H]^+$ 211.0826; trouvé: 211.0819.

3-(5-amino-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-1-éthylpyrrolidine-2,5-dione
(111b)



$C_9H_{12}N_4O_3$: Cristaux incolores, Rdt : 82 % ; Pf : 181-182 °C.

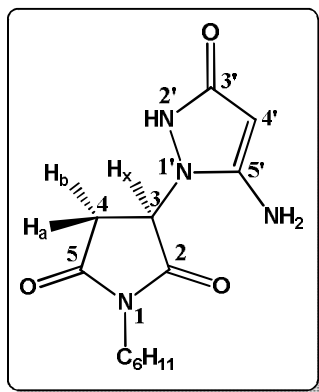
RMN 1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.32 (s, 1H, 2'-NH), 5.72 (s, 2H, 5'-NH $_2$), 5.10 (dd, J = 9.1 et 4.3 Hz, 1H, H $_x$ -3), 4.52 (s, 1H, H-4'), 3.42 (dd, J = 7.2 et 3.3 Hz, 2H, CH $_{2(Et)}$), 3.05 (dd, J = 17.9 et 9.1 Hz, 1H, H $_b$ -4), 2.71 (dd, J = 17.9 et 4.3 Hz, 1H, H $_a$ -4), 1.06 (t, J = 7.2 Hz, 3H, CH $_{3(Et)}$).

CHAPITRE I / Partie expérimentale

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 174.89 (5-C=O), 174.12 (2-C=O), 164.85 (3'-C=O), 154.21 (C-5'), 75.86 (C-4'), 54.22 (C-3), 33.58 (C-4), 33.21 ($\text{CH}_{2(\text{Et})}$), 12.80 ($\text{CH}_{3(\text{Et})}$).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 225.0982; trouvé: 225.0975.

3-(5-amino-3-oxo-2,3-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-1-cyclohexylpyrrolidine-2,5-dione (111c)



C $_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3$: Solide jaune, Rdt : 60 % ; Pf : 199-200 °C.

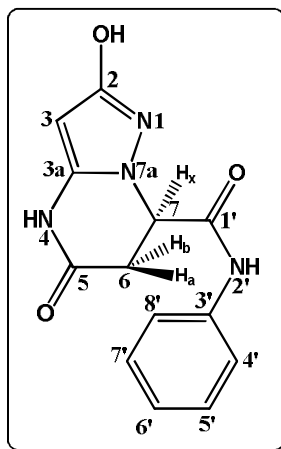
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 9.33 (s, 1H, 2'-NH), 5.68 (s, 2H, 5'-NH $_2$), 5.05 (dd, $J = 9.2$ et 4.6 Hz, 1H, H $_x$ -3), 4.52 (s, 1H, H-4'), 3.83 (ddd, $J = 12.2, 8.6$ et 3.7 Hz, 1H, H $_{\text{cyclohexyl}}$), 3.01 (dd, $J = 17.8$ et 9.2 Hz, 1H, H $_b$ -4), 2.70 (dd, $J = 17.9$ et 4.6 Hz, 1H, H $_a$ -4), 2.07– 0.99 (m, 10H, H $_{\text{cyclohexyl}}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 174.91 (5-C=O), 174.19 (2-C=O), 164.69 (3'-C=O), 154.08 (C-5'), 75.80 (C-4'), 53.76 (C-3), 50.90 (C-1'), 33.28 (C-4), 28.51-28.42-25.34-24.87 (CH $_{\text{cyclohexyl}}$).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3+\text{H}]^+$: 225.0982; trouvé: 225.0975.

2-hydroxy-5-oxo-N-phényl-4,5,6,7-tétrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidine-7-carboxamide (111d)

Le procédé employé est le même que celui utilisé dans la synthèse des dérivés **111a-c**



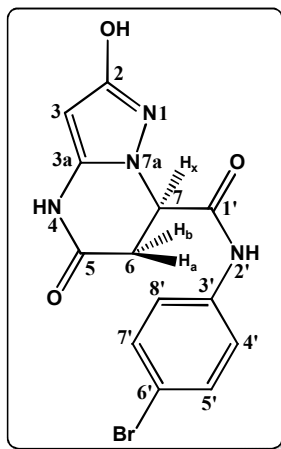
C₁₃H₁₂N₄O₃: Cristaux incolores, Rdt : 78 % ; Pf : 270-271 °C.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 10.65 (s, 1H, 4-NH), 10.39 (s, 1H, 2'-NH), 9.90 (s, 1H, 2-OH), 7.57 (dd, *J* = 8.6 et 1.0 Hz, 2H, H-4', H-8'), 7.31 (ddd, *J* = 9.8, 7.8 et 4.0 Hz, 2H, H-5', H-7'), 7.14–7.03 (m, 1H, H-6'), 4.93 (s, 1H, H-3), 4.86 (dd, *J* = 7.7 et 2.7 Hz, 1H, H_x-7), 3.28 (dd, *J* = 16.9 et 7.7 Hz, 1H, H_b-6), 2.71 (dd, *J* = 16.8 et 2.7 Hz, 1H, H_a-6).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 167.61 (1'-C=O), 165.04 (5-C=O), 161.67 (C-2), 141.45 (C-3a), 138.39 (C-3'), 128.90 (C-5', C-7'), 123.92 (C-6'), 119.30 (C-4', C-8'), 76.29 (C-3), 56.90 (C-7), 33.96 (C-6).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₁₃H₁₂N₄O₃+H]⁺ 273.0982; trouvé: 273.0975.

N-(4-bromophényl)-2-hydroxy-5-oxo-4,5,6,7-tétrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidine-7-carboxamide (111e): Même procédé que 111a-d.



$C_{13}H_{11}BrN_4O_3$: Solide jaune, Rdt : 86 % ; Pf : 304-305 °C.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 10.65 (s, 1H, 4-NH), 10.55 (s, 1H, 2'-NH), 9.91 (s, 1H, 2-OH), 7.59–7.53 (m, 2H, H-5', H-7'), 7.53–7.46 (m, 2H, H-4', H-8'), 4.92 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-3), 4.85 (dd, $J = 7.6$ et 2.7 Hz, 1H, H_x -7), 3.28 (dd, $J = 16.9$ et 7.6 Hz, 1H, H_b -6), 2.73 (dd, $J = 16.9$ et 2.6 Hz, 1H, H_a -6).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 167.77(5-C=O), 164.96(1'-C=O), 161.70 (C-2), 141.44 (C-3a), 137.74 (C-3'), 131.72 (C-4', C-8'), 121.28 (C-5', C-7'), 115.56 (C-6'), 76.32 (C-3), 56.93 (C-7), 33.81(C-6).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{13}H_{11}BrN_4O_3+H]^+$ 351.0087; trouvé: 351.00.

CHAPITRE II

Les benzopyran-4-ones dans la synthèse de nouvelles benzophénones

Partie A

Etude bibliographique

I. Introduction

Le motif benzophénone se retrouve dans les structures de nombreux produits naturels et synthétiques dont la plupart présente un large intérêt du fait de leur vaste domaine de propriétés biologiques et de leurs applications pharmacologiques.⁷⁶ En effet, certains de ces produits présentent une activité anticancéreuse bien marquée.⁷⁷

Pour toutes ces raisons, la synthèse de nouvelles molécules à noyau benzophénone est devenue un challenge très important pour les chimistes organiciens. En effet, l'étude que nous avons entreprise, dans ce deuxième chapitre, a pour objectif principal l'accès à des structures originales diversifiées qui contiennent le motif benzophénone en vue d'études ultérieures de leurs activités anticancéreuses.

En effet, le cancer est l'une des principales causes de décès dans le monde, il touche un homme sur cinq et une femme sur six. Selon le dernier rapport publié par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), 19.3 millions de nouveaux cas de cancers ont été diagnostiqués avec 10 millions de décès.⁷⁸

A ce jour, il n'existe aucun traitement permettant la guérison définitive du cancer malgré les progrès dans le développement d'un nombre important de médicaments.

Face à cette situation inquiétante, il est donc impérieux d'explorer la synthèse de nouvelles substances qui pourraient être utilisées comme traitements palliatifs contre cette maladie potentiellement mortelle.

La première partie de ce chapitre est dédiée aux intérêts et utilisations du motif benzophénone qu'il soit naturel ou synthétique ainsi qu'aux voies de synthèse permettant d'y accéder. La seconde partie sera, quant à elle, consacrée aux travaux effectués dans le cadre de ce travail.

⁷⁶ (a): Dzoyem, Jean Paul., *et al.* "Anti-inflammatory activity of benzophenone and xanthone derivatives isolated from *Garcinia* (Clusiaceae) species." *Phytochemistry Letters* 14 (2015): 153-158. (b): Wang, Zhao-Quan., *et al.* "Cytotoxic garcimultiflorones K-Q, lavandulyl benzophenones from *Garcinia multiflora* branches." *Phytochemistry* 152 (2018): 82-90. (c): Palomer, Albert., *et al.* "Modeling cyclooxygenase inhibition. Implication of active site hydration on the selectivity of ketoprofen analogues." *Journal of medicinal chemistry* 43.11 (2000): 2280-2284. (d): Cruz, Allan Jefferson., *et al.* "Vascular effects of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Rheedia gardneriana*, on the rat aorta." *Phytomedicine* 13.6 (2006): 442-445.

⁷⁷ (a): Prabhakar, B. T., *et al.* "Anti-tumor and proapoptotic effect of novel synthetic benzophenone analogues in Ehrlich ascites tumor cells." *Bioorganic & medicinal chemistry* 14.2 (2006): 435-446. (b): Hsieh, Hsing-Pang., *et al.* "Structure-activity and crystallographic analysis of benzophenone derivatives-the potential anticancer agents." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13.1 (2003): 101-105. (c): Pailee, Phanruethai., *et al.* "Anti-HIV and cytotoxic biphenyls, benzophenones and xanthenes from stems, leaves and twigs of *Garcinia speciosa*." *Phytochemistry* 147 (2018): 68-79.

⁷⁸ International agency for Research on Cancer. Accessed 15 December 2020; Available online: <https://gco.iarc.fr/>.

II. Rappels bibliographiques sur les dérivés benzophénones

II.1. Le motif benzophénone

La benzophénone (BP), ou diphénylméthanone (selon la nomenclature IUPAC), est une substance organique, aromatique, oxygénée, de formule brute $C_{13}H_{10}O$, généralement abrégée Ph₂CO dont la molécule contient deux noyaux phényle reliés par un groupe carbonyle (**Figure 17**).⁷⁹

Cet élément structural présente un grand intérêt biochimique,⁸⁰ médicinal,⁸¹ industriel⁸² et physico-chimique.⁸³ C'est pourquoi, il constitue une cible privilégiée pour le chimiste organicien.

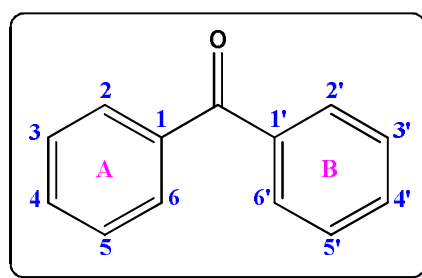


Figure 17 : Motif benzophénone

La dénomination "benzophénone" fut introduite pour la première fois en 1849 par le chimiste Français G.Chancel,⁸⁴ nom indiquant son appartenance simultanée aux séries benzoïque et benzénique, ainsi qu'à la classe acétone.

II.2. Intérêt biologique

Les benzophénones ont attiré une attention considérable en chimie organique et médicinale en raison de leurs propriétés pharmacologiques et thérapeutiques. Certains dérivés

⁷⁹Fleischer, Everly B., *et al.* "Crystal structure of benzophenone." *The Journal of Physical Chemistry* 72.12 (1968): 4311-4312.

⁸⁰Freedlander, B. L. "Effect of benzophenone and allied compounds on human tubercle bacilli in vitro." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 51.1 (1942): 153-156.

⁸¹(a): Surana, Khemchand., *et al.* "Benzophenone: a ubiquitous scaffold in medicinal chemistry." *Med Chem Comm* 9.11 (2018): 1803-1817. (b): Khanum, Shaukath A., *et al.* "Synthesis and anti-inflammatory activity of benzophenone analogues." *Bioorganic chemistry* 32.4 (2004): 211-222.

⁸²Böhm, Markus., *et al.* "Exploration of novel aryl binding sites of farnesyltransferase using molecular modeling and benzophenone-based farnesyltransferase inhibitors." *Journal of medicinal chemistry* 44.19 (2001): 3117-3124.

⁸³(a): Olszanowski, Andrzej., *et al.* "Kinetics of Photo-isomerization and Photo-degradation of 2-Hydroxy-5-methylbenzophenone (E)-and (Z)-Oximes." *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental AND Clean Technology* 68.2 (1997): 236-242. (b): Terazima, Masahide. "Reaction enthalpy and reaction volume changes upon photoenolization: 2-methylbenzophenone." *The Journal of Physical Chemistry A* 102.3 (1998): 545-551.

⁸⁴Chancel, G., "Recherches sur la Série Benzoïque et ses Dérivés." *Compt. Rendus*, (1849): 28, 83-86.

CHAPITRE II / Partie A: Etude bibliographique

simples ou bien fonctionnalisés ont montré une gamme étendue d'effets biologiques comprenant l'activité antifongique,⁸⁵ antibactérienne,⁸⁶ anti-virale,⁸⁷ anti-inflammatoire,⁸⁸ cytotoxique,⁸⁹ anti-leishmaniale et en tant qu'inhibiteurs enzymatiques.⁹⁰ Ils sont connus aussi pour leur puissance contre le cancer in vivo et in vitro.⁹¹ D'autres activités ont également été révélées dans la littérature parmi elles on peut citer : l'inhibition non nucléosidique de la transcriptase inverse,⁹² antinéoplasique,⁹³ antimicrotubule,⁹⁴ activité inhibitrices de l'uréase,⁹⁵ effets inhibiteurs des lipoprotéines de basse densité,⁹⁶ inhibiteur de la tolémérase,⁹⁷ transducteur de signal et activateur de l'inhibiteur de protéine de transcription.⁹⁸ En dehors de

⁸⁵Schmitt, Mark R., *et al.* "Microscopy reveals disease control through novel effects on fungal development: a case study with an early-generation benzophenone fungicide." *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 62.5 (2006): 383-392.

⁸⁶Sakunpak, A., *et al.* "Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone." *Food Chemistry* 130.4 (2012): 826-831.

⁸⁷Langer, Peter., *et al.* "Domino 'Michael-retro-Michael-aldol' reactions of 1, 3-bis-silyl enol ethers with 3-formylchromones." *Tetrahedron letters* 44.43 (2003): 7921-7923.

⁸⁸ (a): Venu, T. D., *et al.* "Synthesis and crystallographic analysis of benzophenone derivatives—The potential anti-inflammatory agents." *Bioorganic & medicinal chemistry* 15.10 (2007): 3505-3514. (b): Khanum, Shaukath A., *et al.* "Synthesis and evaluation of benzophenone-N-ethyl morpholine ethers as anti-inflammatory agents." *International journal of biomedical science: IJBS* 6.1 (2010): 60. (c): Dzoyem, Jean Paul., *et al.* "Anti-inflammatory activity of benzophenone and xanthone derivatives isolated from *Garcinia* (Clusiaceae) species." *Phytochemistry Letters* 14 (2015): 153-158.

⁸⁹Wang, Zhao-Quan., *et al.* "Cytotoxic garcimultiflorones K–Q, lavandulyl benzophenones from *Garcinia multiflora* branches." *Phytochemistry* 152 (2018): 82-90.

⁹⁰ (a): Palomer, Albert., *et al.* "Modeling cyclooxygenase inhibition. Implication of active site hydration on the selectivity of ketoprofen analogues." *Journal of medicinal chemistry* 43.11 (2000): 2280-2284. (b): Cruz, Allan Jefferson., *et al.* "Vascular effects of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Rheedia gardneriana*, on the rat aorta." *Phytomedicine* 13.6 (2006): 442-445. (c): de Almeida, Leticia., *et al.* "Benzophenone derivatives as cysteine protease inhibitors and biological activity against *Leishmania* (L.) *amazonensis* amastigotes." *Biomedicine & Pharmacotherapy* 75 (2015): 93-99. (d): Arshia., *et al.* "Synthesis of 4-substituted ethers of benzophenone and their antileishmanial activities." *Royal Society open science* 5.5 (2018): 171771.

⁹¹ (a): HG, Shamanth Neralagundi., *et al.* "Antitumor Hybrid BT009K Modulates Inflammation Induced Neovascularization in Both Tumorigenic and Non-Tumorigenic Model System." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 8.04 (2018): 143-149. (b): Hanahan, Douglas., *et al.* "The hallmarks of cancer." *cell* 100.1 (2000): 57-70. (c): Prabhakar, B. T., *et al.* "Anti-tumor and proapoptotic effect of novel synthetic benzophenone analogues in Ehrlich ascites tumor cells." *Bioorganic & medicinal chemistry* 14.2 (2006): 435-446

⁹²Ma, Xiao-Dong., *et al.* "Synthesis and biological activity of naphthyl-substituted (B-ring) benzophenone derivatives as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors." *Bioorganic & medicinal chemistry* 19.15 (2011): 4601-4607.

⁹³ Pettit, GR., *et al.* "Antineoplastic agents. 379. Synthesis of phenstatin phosphate 1a." *Journal of medicinal chemistry* 41.10 (1998): 1688-1695.

⁹⁴Yamazaki, Yuri., *et al.* "Synthesis and structure-activity relationships of benzophenone-bearing diketopiperazine-type anti-microtubule agents." *Bioorganic & medicinal chemistry* 20.14 (2012): 4279-4289.

⁹⁵Arshia, Arshia., *et al.* "Synthesis and urease inhibitory activities of benzophenone semicarbazones/thiosemicarbazones." *Medicinal Chemistry Research* 25.11 (2016): 2666-2679.

⁹⁶Jantan, Ibrahim., *et al.* "Benzophenones and xanthenes from *Garcinia cantleyana* var. *cantleyana* and their inhibitory activities on human low-density lipoprotein oxidation and platelet aggregation." *Phytochemistry* 80 (2012): 58-63.

⁹⁷ Shi, Jing Bo., *et al.* "Benzophenone-nucleoside derivatives as telomerase inhibitors: design, synthesis and anticancer evaluation in vitro and in vivo." *European journal of medicinal chemistry* 124 (2016): 729-739.

⁹⁸Youn, Ui Joung., *et al.* "Bioactive polyprenylated benzophenone derivatives from the fruits extracts of *Garcinia xanthochymus*." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 27.16 (2017): 3760-3765.

ceux-ci, le squelette de la benzophénone est également connu pour avoir une large gamme de propriétés de luminescence,⁹⁹ photo-initiateur¹⁰⁰ et son utilisation importante dans l'industrie des colorants.

II.3. Les benzophénones à l'état naturel

Il existe de nombreuses molécules naturelles incorporant le motif benzophénone au sein de leurs structures ; ce dernier a été signalé dans des plantes tels que : *Gentiana verna*,¹⁰¹ *Garcinia cochinchinensis*¹⁰² et il a été constaté qu'environ 77% des benzophénones naturelles connues se trouvent dans la famille des Clusiaceae (anciennement Guttiferae).¹⁰³ La Figure 18 en présente quelques-unes.

⁹⁹ (a): Shiraishi, Yasuhiro., *et al.* "Sensitized luminescence of Eu and Tb macrocyclic complexes bearing benzophenone antennae." *Journal of luminescence* 126.1 (2007): 68-76. (b): Shiraishi, Yasuhiro., *et al.* "Sensitized luminescence properties of dinuclear lanthanide macrocyclic complexes bearing a benzophenone antenna." *Journal of luminescence* 127.2 (2007): 623-632.

¹⁰⁰ (a): Wang, Kemin., *et al.* "Novel polymeric photoinitiators with side-chain benzophenone: Facile synthesis and photopolymerization properties without coinitiator." *Progress in Organic Coatings* 77.11 (2014): 1929-1934. (b): Karahan, Özlem., *et al.* "Synthesis and evaluations of novel photoinitiators with side-chain benzophenone, derived from alkyl α -hydroxymethacrylates." *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 274 (2014): 43-49

¹⁰¹Kaya, Duygu., *et al.* "New benzophenone glucosides from the aerial parts of *Gentiana verna* L. subsp. *pontica* (Soltok.) Hayek." *Phytochemistry Letters* 4.4 (2011): 459-461

¹⁰²Trinh, Binh TD., *et al.* "Polyisoprenylated benzophenone and xanthone constituents of the bark of *Garcinia cochinchinensis*." *Phytochemistry Letters* 6.2 (2013): 224-227.

¹⁰³ (a): Wu, Shi-Biao., *et al.* "Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones." *Natural product reports* 31.9 (2014): 1158-1174. (b): Acuna, Ulyana M., *et al.* "Polyisoprenylated benzophenones from Clusiaceae: potential drugs and lead compounds." *Current Topics in Medicinal Chemistry* 9.16 (2009): 1560-1580.

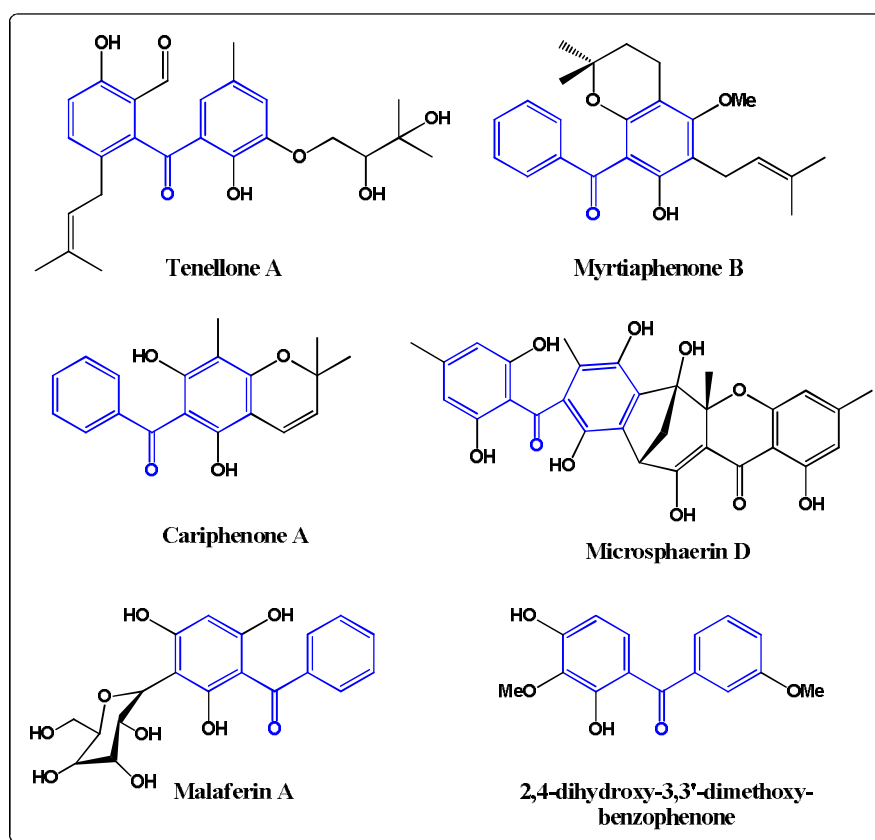


Figure 16 : Exemples des benzophénones naturelles

II.4. Les benzophénones en chimie pharmaceutique

Depuis de nombreuses années, l'importance des benzophénones ne cesse d'augmenter et leur part de marché dans le domaine pharmacologique suit une courbe ascendante. Ce qui explique l'intérêt manifesté par les chimistes organiciens qui ont consacré de nombreux travaux à la synthèse de ces substances dans le but de mettre en évidence leurs propriétés biologiques. En fait, plusieurs molécules incluant le cycle benzophénone sont présentes au stade d'études cliniques ou commercialisées en tant que médicaments traitant divers types de pathologie. Parmi ces composés, on peut citer le kétoprofène qui est un puissant anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ayant des effets analgésique et antipyrétique;¹⁰⁴ le tolcapone (nom de marque Tasmar), un dérivé dihydroxy de la benzophénone, utilisé pour

¹⁰⁴ (a): Boscá, Francisco., *et al.* "Photochemical and photobiological properties of ketoprofen associated with the benzophenone chromophore." *Photochemistry and photobiology* 60.2 (1994): 96-101. (b): Boscá, Francisco., *et al.* "New trends in photobiology (invited review) photosensitizing drugs containing the benzophenone chromophore." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 43.1 (1998): 1-26. (c): Cuquerella, M. C., *et al.* "Benzophenone photosensitized DNA damage." *Accounts of chemical research* 45.9 (2012): 1558-1570.

traiter la maladie de Parkinson;¹⁰⁵ le fénofibrate est principalement utilisé pour réduire le taux de cholestérol chez les patients à risque de maladie cardiovasculaire.¹⁰⁶ De plus, les benzophénones représentent l'une des classes de substances les plus importantes en photochimie et sont largement utilisées comme photosensibilisateurs en raison de leur système conjugué. En particulier, les filtres UV-A/UV-B, tels que les 2-hydroxybenzophénones,^{106,107} qui sont connus pour être des composants actifs dans les produits de protection solaire (par exemple les écrans solaires) qui empêchent la lumière ultraviolette de traverser la peau.^{104c, 107,108} (Figure 19)

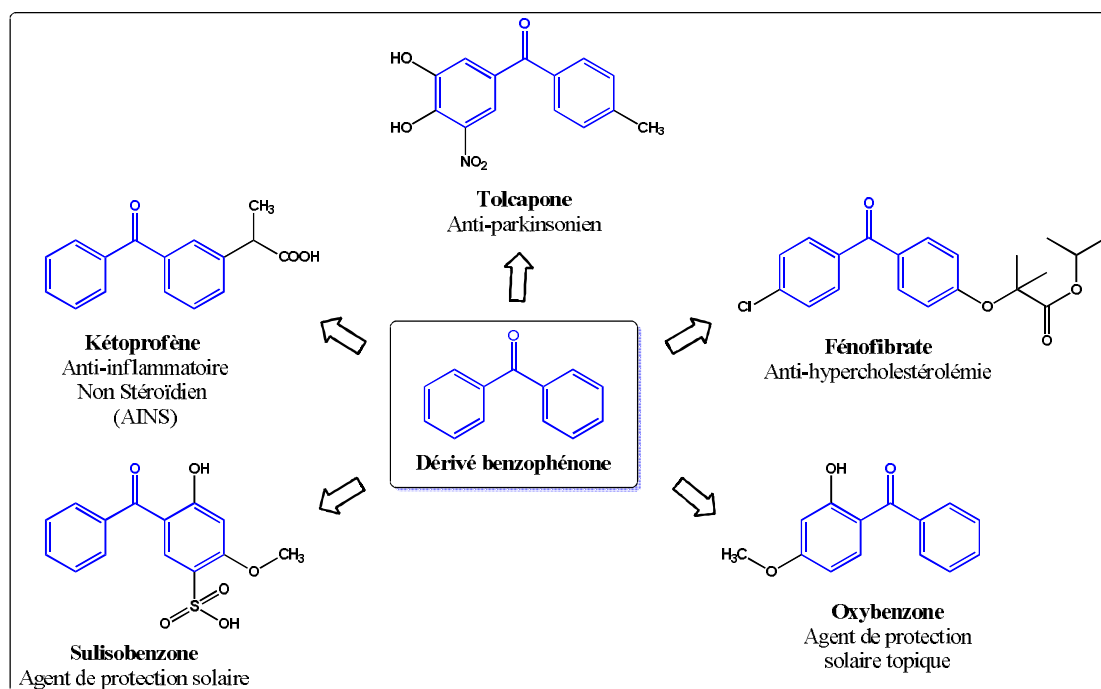


Figure 17 : Exemples représentatifs de médicaments à base de benzophénone

II.5. Les benzophénones à activité anticancéreuse

Au cours des vingt dernières années, plusieurs benzophénones naturelles et synthétiques ont révélé une activité anticancéreuse.^{91a, 91c, 109} Par exemple, les

¹⁰⁵Leegwater-Kim, J., *et al.* "Role of tolcapone in the treatment of Parkinson's disease." *Expert review of neurotherapeutics* 7.12 (2007): 1649-1657.

¹⁰⁶Rosenson, Robert S. "Fenofibrate: treatment of hyperlipidemia and beyond." *Expert review of cardiovascular therapy* 6.10 (2008): 1319-1330.

¹⁰⁷Forbes Jr, M. A., *et al.* "Benzophenone as a sunscreen." *Southern medical journal* 59.3 (1966): 321.

¹⁰⁸(a): Heurung, Ashley R., *et al.* "Benzophenones." *Dermatitis* 25.1 (2014): 3-10. (b): Gibson, J. R. "Sunscreen dermatitis: Part III--The benzophenones." *Cutis* 51.6 (1993): 406.

¹⁰⁹(a): Hsieh, Hsing-Pang., *et al.* "Structure-activity and crystallographic analysis of benzophenone derivatives-the potential anticancer agents." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13.1 (2003): 101-105. (b): Pailee,

benzophénonessynthétiques à substitution amino et méthoxy **112** (**Figure 20**) ont montré une activité cytotoxique puissante dans les lignées cellulaires cancéreuses KB et Hone-1 et une multi-résistance aux lignées cellulaires KBs5, KBVin10, KB-7D, KB 100 et CPT30. La présence du groupe amino en position ortho du cycle benzophénone joue un rôle fondamental dans l'augmentation des effets cytotoxiques.^{109a}

Les structures de benzophénonnes conjuguées à des blocs de construction amide, tels que les (2-aroyle-4-méthylphénoxy) acétamides **113** et BT0009K **114** (**Figure 20**), ont été évaluées comme agents anticancéreux. Les (2-aroyle-4-méthylphénoxy) acétamides **112** ont inhibé la prolifération du carcinome d'ascite d'Ehrlich (EAC) et la formation d'ascite in vivo. Le composé **113** a également induit l'apoptose dans les cellules EAT par activation de caspase-3.^{91c} De plus, le BT009K **114** a été testé pour un large panel de lignées de cellules cancéreuses telles que MCF-7, A549, A-375 et EAC, montrant une cytotoxicité significative contre le carcinome ascitique d'Ehrlich (EAC) avec un effet prolongé. L'effet antitumoral in vivo a été observé dans le modèle de tumeur à ascite EAC et semble être lié à une angiogenèse réduite. Un examen histologique plus poussé avec le marqueur endothélial CD31 a confirmé l'effet angio-régressif du BT009K **114**.^{91a}

Des benzophénonnes naturelles isolées de *Garcinia speciosa* telles que 4,6,3',4'-tétrahydroxy-2-méthoxybenzophénone **115** (**Figure 20**) ont été signalées comme présentant une activité prometteuse dans un panel de lignées de cellules cancéreuses (P-388, KB, Col -2, BCA-1, Lu-1 et ASK) enregistrant des valeurs ED50 dans la plage de 1,85 à 11,76 μM .^{109b} Le Garcinol **116**, une benzophénone polyisoprénylée et composant actif des fructifications de *Garcinia indica*, possède des effets inhibiteurs sur le phénotype des cellules souches du cancer du poumon en raison de sa capacité à supprimer la voie de signalisation de l'axe Wnt / β -catenin / STAT3 dans les cellules cancéreuses du poumon.¹¹⁰

Phanruethai., *et al.* "Anti-HIV and cytotoxic biphenyls, benzophenones and xanthenes from stems, leaves and twigs of *Garcinia speciosa*." *Phytochemistry* 147 (2018): 68-79.

¹¹⁰ Huang, Wen-Chien., *et al.* "Garcinol inhibits cancer stem cell-like phenotype via suppression of the Wnt/ β -catenin/STAT3 axis signalling pathway in human non-small cell lung carcinomas." *The Journal of nutritional biochemistry* 54 (2018): 140-150.

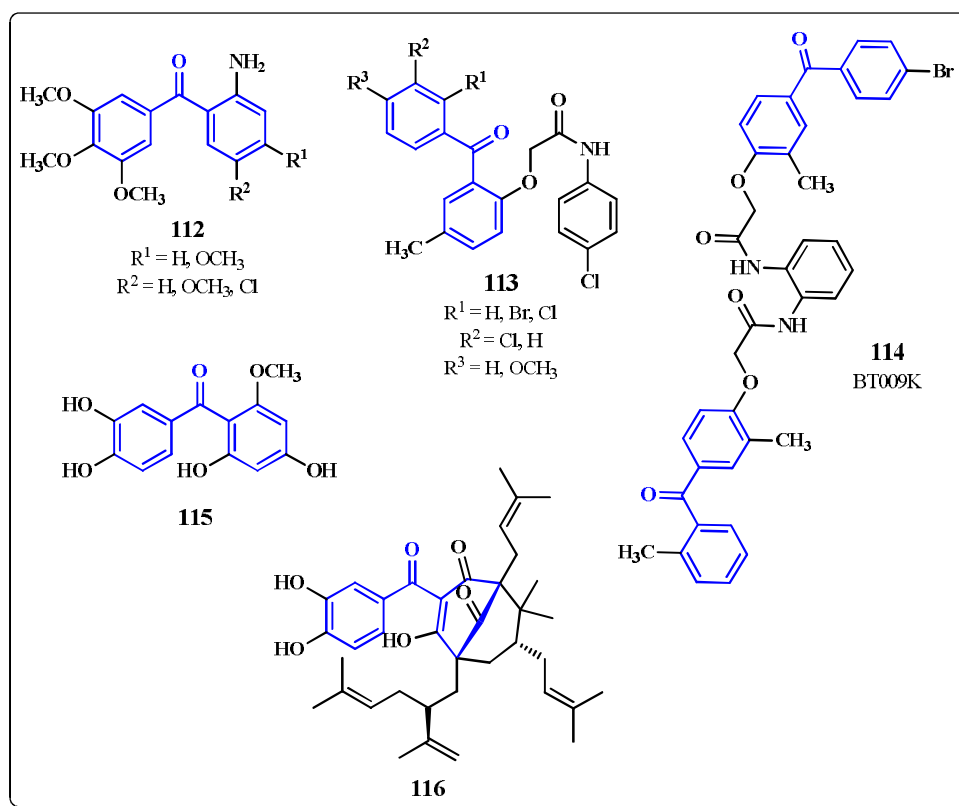


Figure 20 : Structure des benzophénones synthétiques et naturelles à activité anticancéreuse

II.6. Travaux antérieurs sur les méthodes de synthèse des dérivés de benzophénones

En raison de leur large gamme d'applications, la préparation de la benzophénone et de ses dérivés a attiré l'attention des organiciens ; de nombreuses méthodes, à partir de substrats divers, ont été développées pour leur synthèse. En règle générale, les synthèses classiques des dérivés de la benzophénone reposent principalement sur l'acylation de Friedel-Craft,^{111,112} les réactions de carbonylation catalysées par des métaux, la réaction de Suzuki-Miyaura,¹¹³ les

¹¹¹ Bernardo, Paul H., *et al.* "Friedel– Crafts Acylation and Metalation Strategies in the Synthesis of Calothrixins A and B." *The Journal of organic chemistry* 68.23 (2003): 8906-8909.

¹¹² (a): Nishimoto, Yoshihiro., *et al.* "Esters as acylating reagent in a Friedel– Crafts reaction: Indium tribromide catalyzed acylation of arenes using dimethylchlorosilane." *The Journal of organic chemistry* 73.23 (2008): 9465-9468. (b): Sartori, Giovanni., *et al.* "Use of Solid Catalysts in Friedel– Crafts Acylation Reactions." *Chemical reviews* 111.5 (2011): PR181-PR214. (c): Sartori, Giovanni., *et al.* "Use of solid catalysts in Friedel– Crafts acylation reactions." *Chemical reviews* 106.3 (2006): 1077-1104.

¹¹³ Friis, Stig D., *et al.* "The development and application of two-chamber reactors and carbon monoxide precursors for safe carbonylation reactions." *Accounts of Chemical Research* 49.4 (2016): 594-605.

réactions entre un halogénure d'aryle et un aldéhyde ou son dérivé sous catalyse métallique.¹¹⁴
 (Schéma 34)

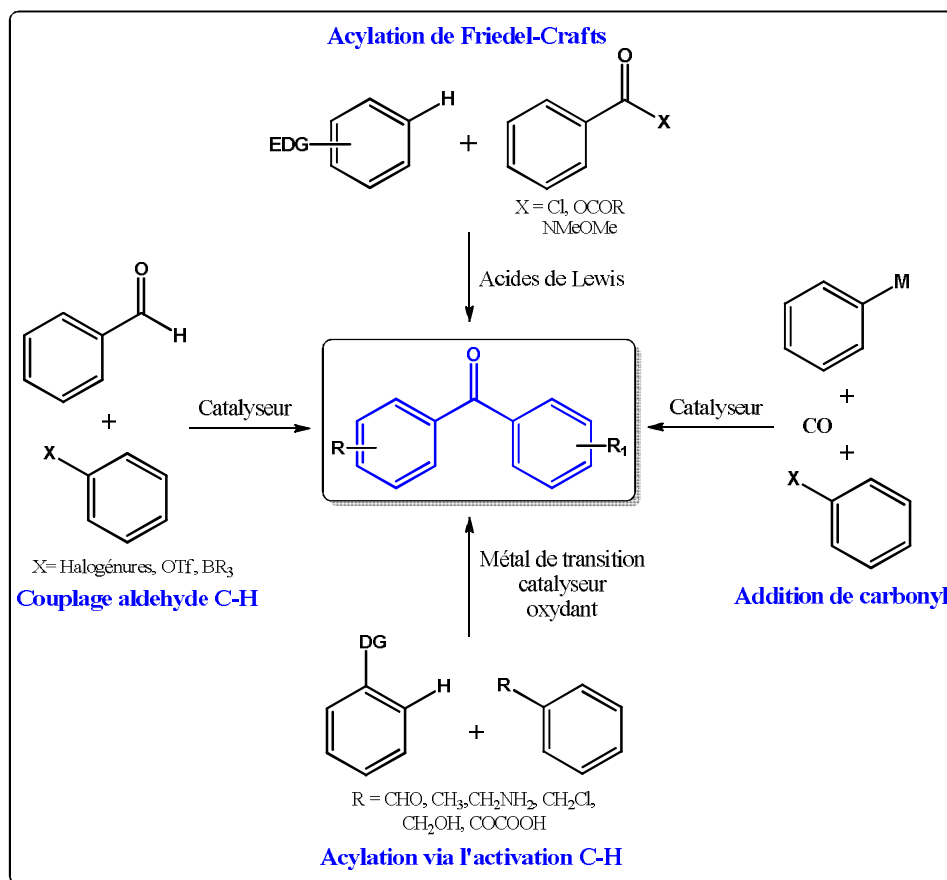


Schéma 34 : Différentes stratégies de synthèse des benzophénones

Dans ce qui suit, nous rapportons quelques stratégies parmi les plus significatives pour accéder à ce type de motif :

La chloration du chlorure d'acide **117** avec du Cl_2 en présence de PCl_5 à $200\text{ }^\circ\text{C}$ a donné 4-(trichlorométhoxy) benzoylchlorure **118** avec un excellent rendement. Une fluoration ultérieure du composé **118** avec HF à basse température ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) a donné le composé 4-(chlorodifluorométhoxy) benzoyle **119** avec des rendements supérieurs à 80%. La réaction de Friedel-Crafts du composé **119** en présence du chlorobenzène en utilisant HF/ BF_3 comme

¹¹⁴(a): Huang, Yi-Chun., *et al.* "Nickel-catalyzed coupling of aryl iodides with aromatic aldehydes: Chemoselective synthesis of ketones." *The Journal of organic chemistry* 67.5 (2002): 1682-1684. (b): Wakaki, Takayuki., *et al.* "Palladium-Catalyzed Synthesis of Diaryl Ketones from Aldehydes and (Hetero) Aryl Halides via C–H Bond Activation." *ACS Catalysis* 8.4 (2018): 3123-3128.

acide de Lewis à -5°C a donné le composé 4-chloro-4'(chlorodifluoromethoxy) benzophénone **120** avec de bons rendements.¹¹⁵

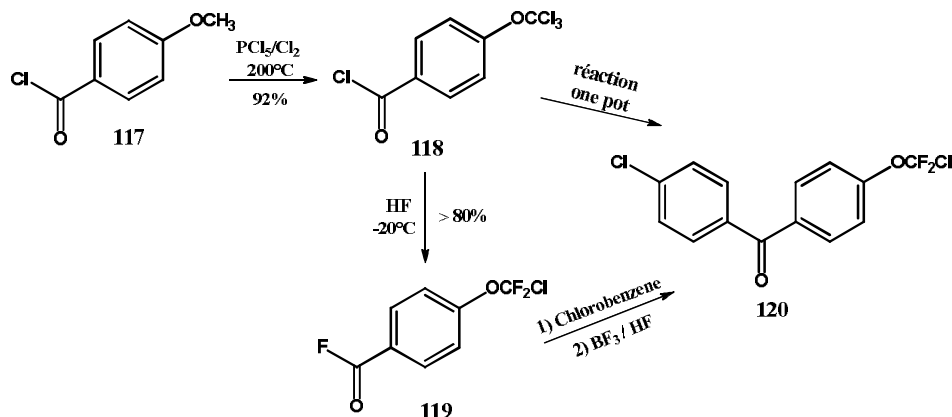


Schéma 35 : Synthèse du composé 4-chloro-4'(chlorodifluoromethoxy) benzophénone par réaction de Friedel-Crafts

Les benzophénones fonctionnalisées **123** ont été préparées par des réactions domino "Michael-rétro-Michael-aldol" d'éthers de 1,3-bis-silyl-énol **121** avec des dérivés 3-formylchromones **122** avec une très bonne chimiosélectivité.¹¹⁶ Ce type de réactions permet une synthèse commode, régio- et chimiosélective d'une grande variété de benzophénones fonctionnalisées à partir de matières premières facilement disponibles.

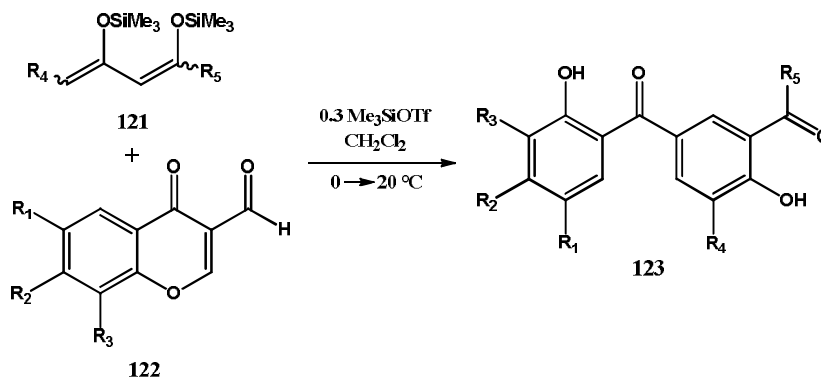


Schéma 36 : Réaction domino "Michael-rétro-Michael-aldol" de formation des benzophénones fonctionnalisées

La réaction d'estérification du phénol **124** avec l'acide benzoïque **125**, suivie du réarrangement de Fries permet d'obtenir les hydroxybenzophénones **126** et **127** dans une

¹¹⁵Karrer, Friedrich., *et al.* "Short synthesis of 4-chloro-4'-(chlorodifluoromethoxy) benzophenone." *Journal of Fluorine Chemistry* 103.1 (2000): 81-84.

¹¹⁶Langer, Peter., *et al.* "Domino 'Michael-retro-Michael-aldol' reactions of 1, 3-bis-silyl enol ethers with 3-formylchromones." *Tetrahedron letters* 44.43 (2003): 7921-7923.

opération en phase liquide en une étape et qui a été examinée avec plusieurs catalyseurs dans des conditions sans solvant. Les sélectivités de la 2-hydroxybenzophénone et de la 4-hydroxybenzophénone dépendaient principalement de la durée, de la température, du rapport molaire phénol / acide benzoïque et de la charge de catalyseur.¹¹⁷

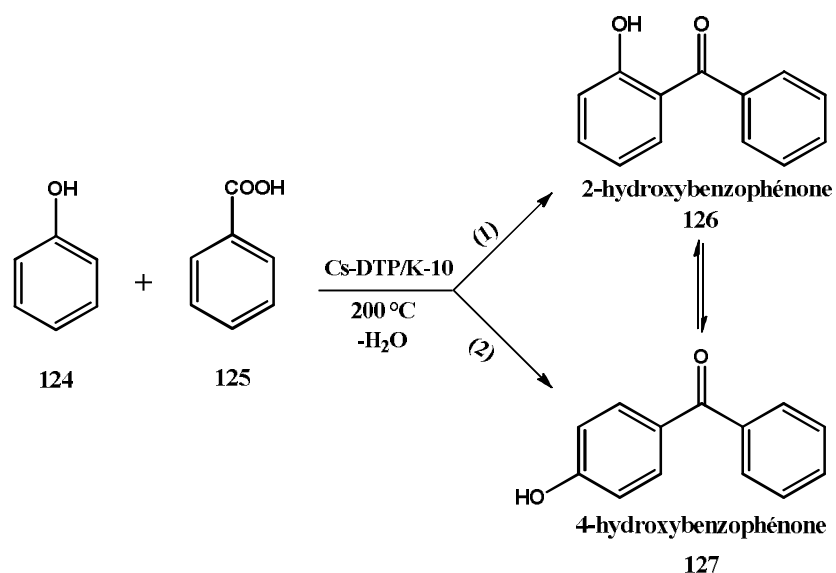


Schéma 37 : Synthèse en une étape de la 4-hydroxybenzophénone par estérification et réarrangement de Fries

Les benzoates de 2-méthylphényle substitués (**130a-j**) ont été synthétisés avec un excellent rendement (85-90%) en agitant le 2-méthylphénol **128** (1, 1 équivalent) avec les chlorures de benzoyle correspondants (**139a-j**, 1 équivalent) pendant 30 minutes en milieu alcalin en utilisant une solution d'hydroxyde de sodium à 10%. Les hydroxy benzophénones substituées (**131a-j**) ont été synthétisées avec un rendement de 80 à 83% en chauffant au reflux du diméthylsulfoxyde (DMSO) un mélange de **130a-j** (1 équivalent) et du chlorure d'aluminium anhydre (1,5 équivalent) pendant 20 minutes. La condensation de **131a-j** (1 équivalent) avec du chlorhydrate de 4- (2-chloroéthyl) morpholine (1 équivalent) pendant 3 heures en présence du carbonate de potassium anhydre (1,5 équivalent) et du sulfoxyde de diméthyle a fourni des éthers de benzophénone-N-éthyl morpholine substitués (**132a-j**) avec un rendement de 70 à 75%.¹¹⁸

¹¹⁷ Yadav, Ganapati D., *et al.* "Single step synthesis of 4-hydroxybenzophenone via esterification and Fries rearrangement: novelty of cesium substituted heteropoly acid supported on clay." *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 292.1-2 (2008): 54-61.

¹¹⁸ Khanum, Shaikath A., *et al.* "Synthesis and evaluation of benzophenone-N-ethyl morpholine ethers as anti-inflammatory agents." *International journal of biomedical science: IJBS* 6.1 (2010): 60.

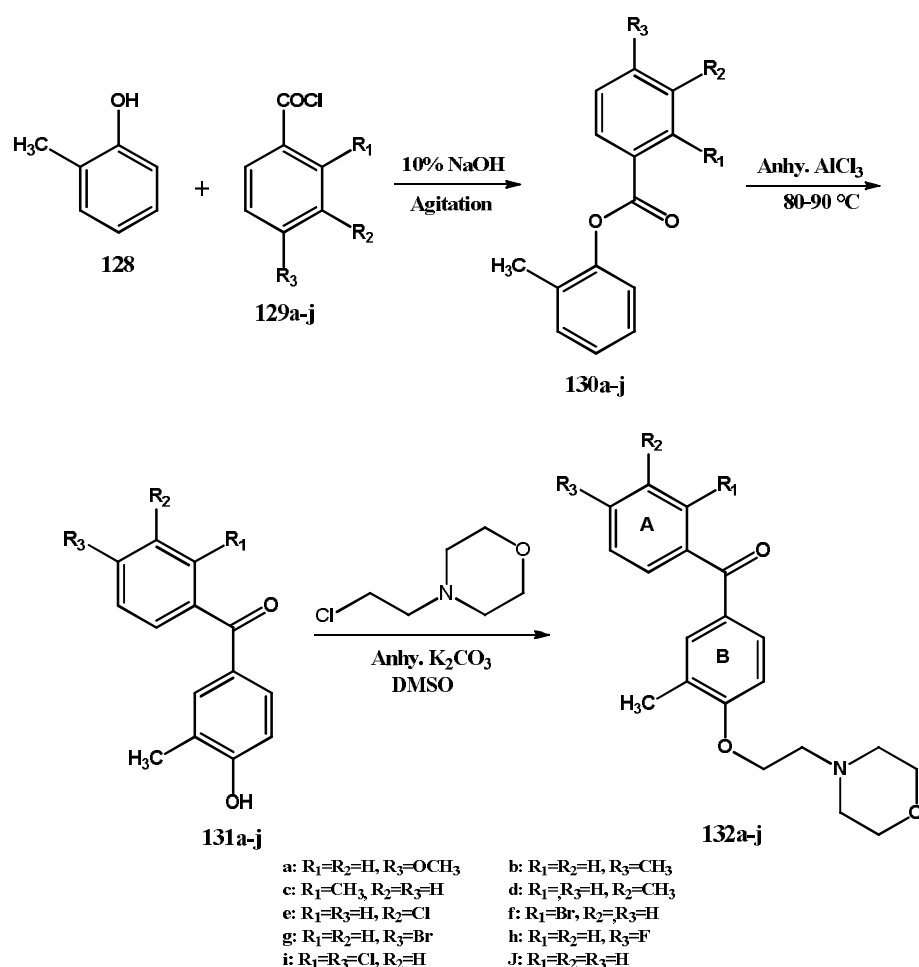


Schéma 38 : Synthèse des éthers de benzophénone-N-éthyl morpholine substitués

Une séquence de réaction en tandem à "one pot" favorisée par une base a été développée pour transformer les diènes fusionnés aux chromones électrodéficients **133** et les composés 1,3-dicarbonyle **134** en 2-hydroxybenzophénones **135** fonctionnalisées, dans des conditions douces.¹¹⁹

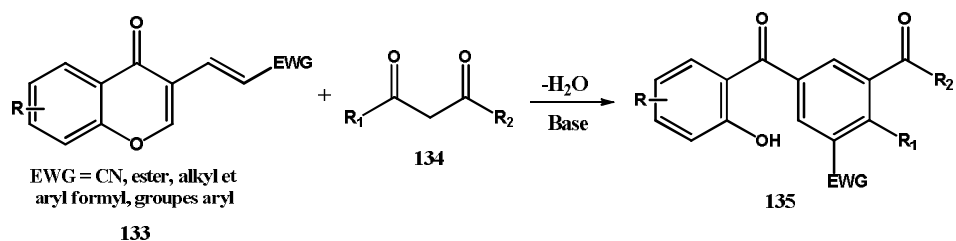


Schéma 39 : Réaction en tandem à "one pot" des 2-hydroxybenzophénones fonctionnalisées

¹¹⁹Chen, Hong., *et al.* "Domino Reaction to Functionalized 2-Hydroxybenzophenones from Electron-Deficient Chromones and 1, 3-Dicarbonyl Compounds." *The Journal of Organic Chemistry* 76.20 (2011): 8495-8500.

Une autre synthèse des dérivés benzophénones est décrite dans le schéma 40. Le 2-bromo-1,3,5-triméthoxybenzène **137** a été synthétisé à partir du 1,3,5-triméthoxybenzène **136** par bromation en utilisant du brome dans de l'acide acétique glacial. Les dérivés de la benzophénone **139** ont été synthétisés en acylant la 2-bromo-1,3,5-triméthoxybenzène **138** avec des chlorures de benzoyle substitués **138** dans de l'éther sec via l'acylation de Friedel-Craft.¹²⁰

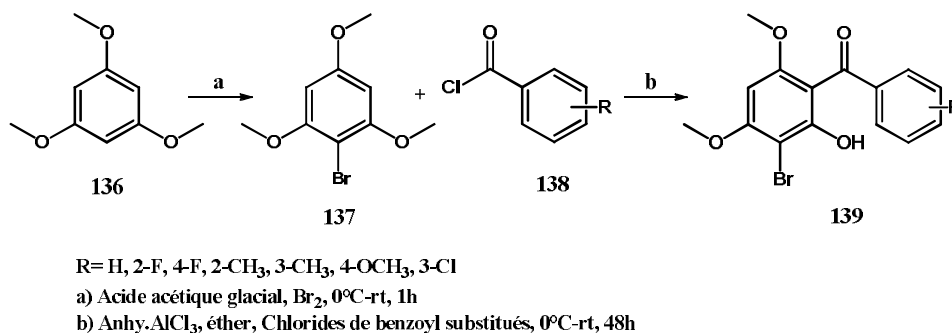
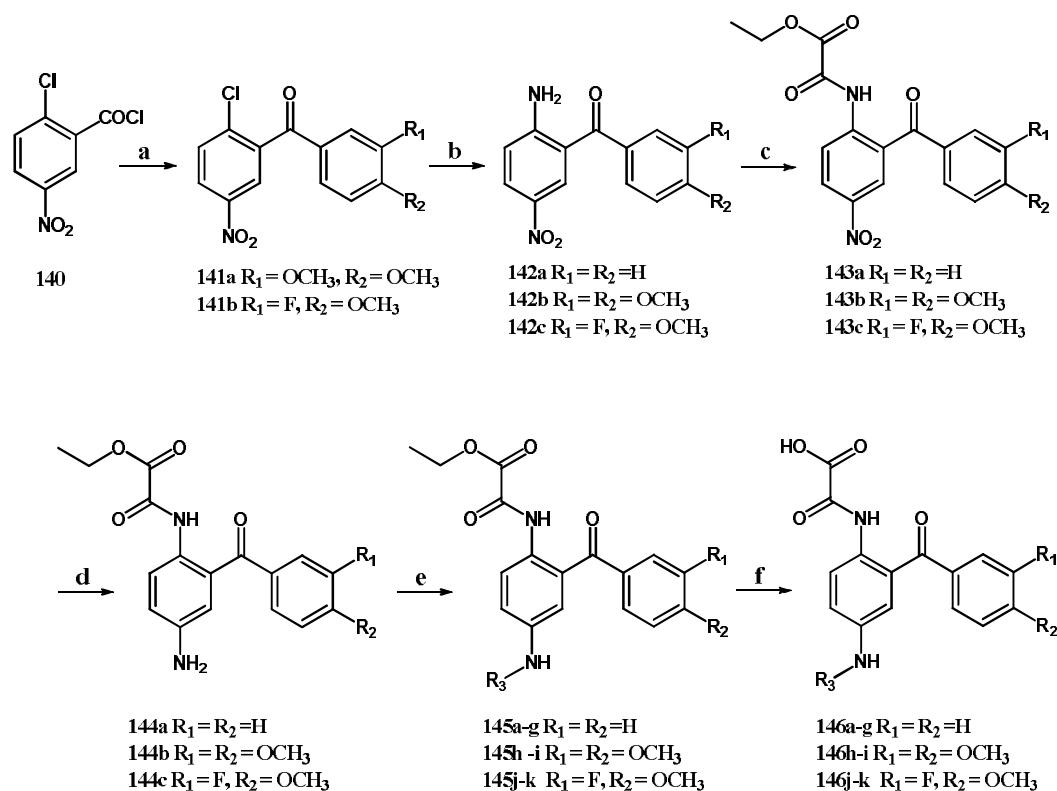


Schéma 40 : Synthèse des dérivés de la benzophénone via l'acylation de Friedel-Craft

Une série de nouveaux dérivés benzophénones **141** ont été préparées par réaction de Friedel-Crafts entre le chlorure du 2-chloro-5-nitrobenzoyle **140** et le benzène substitué (**a**). L'amination des intermédiaires **141** avec de l'ammoniac aqueux sous irradiation micro-ondes a fourni les composés **142** avec des rendements de 54% et 47%, respectivement. L'acylation des amines **142** avec le monochlorure d'éthylxalyle dans le toluène s'est déroulée, dans des conditions douces, pour fournir les produits correspondants **143** avec des rendements allant de 64 à 83%. Les composés **143** ont été réduits sous hydrogénation catalytique dans le trifluoroéthanol en amines correspondantes **144** avec des rendements allant de 76 à 91%. La conversion des amines **144a-c** en amides **145a-k** par réaction avec divers chlorures carboxyliques en présence de la base de Hunig (N,N-Diisopropyléthylamine) s'est effectuée avec des rendements modérés à bons. Lors du traitement dans des conditions réactionnelles basiques, les composés **145a-145k** ont été hydrolysés en dérivés d'acide oxoacétique correspondants **146a-k** avec des rendements de 39 à 91%.¹²¹

¹²⁰Bandgar, Babasaheb., *et al.* "Synthesis, biological evaluation, and pharmacokinetic profiling of benzophenone derivatives as tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 inhibitors." *Medicinal Chemistry Research* 21.10 (2012): 3177-3181.

¹²¹Liu, Chang., *et al.* "Synthesis and biological evaluation of novel human Pin1 inhibitors with benzophenone skeleton." *Bioorganic & medicinal chemistry* 20.9 (2012): 2992-2999.



(a) AlCl₃, 1,2-diméthoxybenzène ou *o*-fluoroanisole; (b) NH₃/H₂O, micro-onde; (c) monochlorure d'éthylalyle, toluène, reflux; (d) H₂ / 10% Pd-C, trifluoroéthanol, rt; (e) RCOCl, DIEA, toluène, reflux; (f) NaOH, THF / H₂O, rt.

Schéma 41 : Synthèse de nouveaux dérivés benzophénones par LiuChanget *al.*

De nouveaux composés analogues structuraux des dérivés benzophénones ont été obtenus comme suit: le groupe amino dans l'ester diméthylque d'acide 5-amino-isophtalique **147** a été converti en dérivé bromo correspondant **148** par traitement avec NaNO₂/HBr suivi de HBr/CuBr. Un des groupes carboxylate de l'ester diméthylque d'acide 5-bromo-isophtalique formé **148** a ensuite été traité par [CH₃MgCl, LiN(SiCH₃)] pour produire l'acétyle **149** qui a été réduit avec NH₂NH₂.H₂O/KOH pour former l'acide 3-bromo-5-éthylbenzoïque **150**. La réaction de Friedel-Craft du chlorure d'acyle correspondant (PCl₅/CCl₄, 60°C) avec le benzène (AlCl₃, 80°C) a donné le produit **151** qui a été mis à réagir avec de l'amide d'acide éthènesulfonique pour donner le produit souhaité **152** avec un rendement de 20% sur les 5 étapes (Schéma 42).¹²²

¹²²Palomer, Albert., *et al.* "Structure-based design of cyclooxygenase-2 selectivity into ketoprofen." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 12.4 (2002): 533-537.

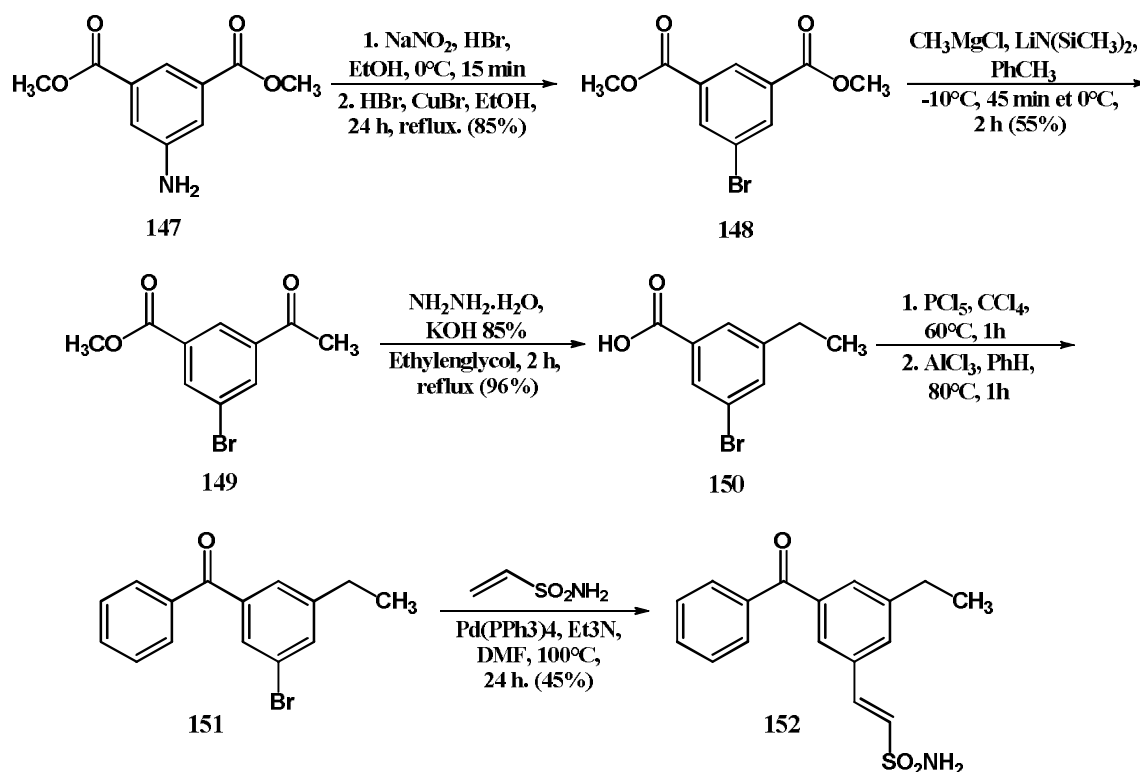


Schéma 42 : Synthèse de nouveaux analogues structuraux des dérivés benzophénones par réaction de Friedel-Craft

Une série de polyhydroxybenzophénone **155** a été préparée par l'équipe de Xuesen Hu¹²³ en utilisant la réaction de Friedel-Crafts en faisant réagir l'acide polyhydroxybenzoïque **153** avec les phénols **154** en présence du chlorure de zinc anhydre et de l'oxychlorure de phosphore.

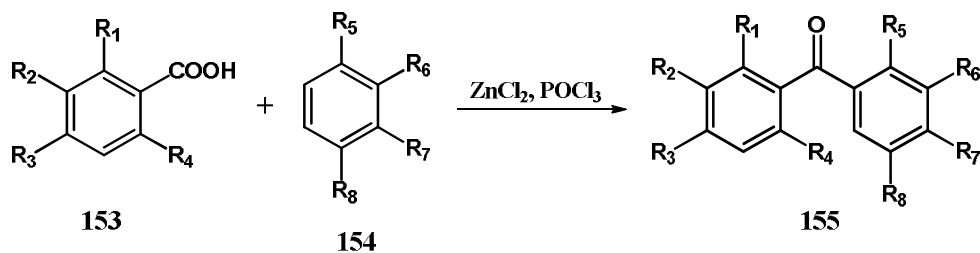


Schéma 43 : Synthèse de polyhydroxybenzophénones par réaction de Friedel-Crafts

¹²³Hu, Xuesen., *et al.* "Evaluation of Polyhydroxybenzophenones as α -Glucosidase Inhibitors." *Archiv der Pharmazie* 344.2 (2011): 71-77.

Une réaction d'arylation catalysée au palladium a fourni l'une des voies les plus faciles pour accéder aux 2-hydroxybenzophénones **158** avec des rendements bons à excellents à partir de 2-hydroxybenzaldéhydes **156** et d'acides arylboroniques **157**.¹²⁴

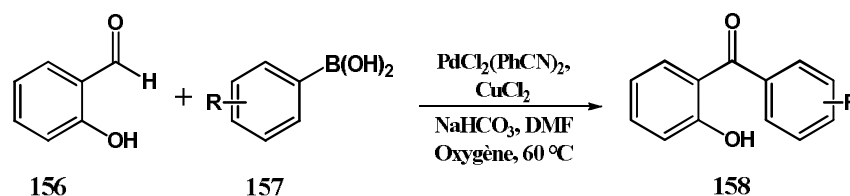


Schéma 44 : Nouvelle voie de synthèse des 2-hydroxybenzophénones

III. Conclusion

Nous avons voulu à travers ce chapitre bibliographique sur les benzophénones rappeler l'importance de ces derniers en chimie médicinale et avons précisé les structures des quelques principes actifs à noyau benzophénone ainsi que leurs indications thérapeutiques.

Nous avons également présenté quelques benzophénones synthétiques qui constituent un groupe prometteur dans la découverte des drogues anticancéreuses. Nous avons ensuite exposé les principales méthodes de construction du noyau benzophénone rapportées dans la littérature à partir de divers substrats.

L'analyse de ces données montre que les benzophénones sont des outils synthétiques importants pour la préparation de composés biologiquement actifs ; cependant certaines des méthodes de synthèse présentées nécessitent des conditions particulières à savoir des températures très élevées, des produits de départ difficilement accessibles ou très coûteux, des réactions multi-étapes... En ce qui nous concerne, nous avons opté pour une approche synthétique efficace permettant l'accès en une seule opération à des structures benzophénones fonctionnalisées originales dont nous décrirons la synthèse dans la partie B.

¹²⁴Weng, Fei., *et al.* "Direct C–H bond arylation of 2-hydroxybenzaldehydes with arylboronic acids via ligand-free palladium catalysis." *Tetrahedron Letters* 51.19 (2010): 2593-2596.

Partie B

Exploitation synthétique des benzopyran- 4-ones : Synthèse des 2-hydroxy- benzophénones substituées

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2-hydroxy-benzophénones substituées

I. Introduction

L'une des stratégies de synthèse des benzophénones est l'utilisation des benzopyran-4-ones comme matière première.¹²⁵ Ces derniers peuvent être obtenus selon deux voies (Schéma 45) :

* La première¹²⁵ est basée sur la dimérisation intermoléculaire de l'acide carboxylique 3-chromone **159** dans un milieu organique basique. Les précurseurs benzopyran-4-ones sont préparés par une synthèse Baker-Venkataraman de composés 1,3-dicarbonyle **160** suivie d'une réaction en tandem d'addition de Michael de ces derniers sur l'acide carboxylique 3-chromone **159**. Les conditions de cette dimérisation catalysée par la 4-pyrrolidinopyridine (4-PPy) se sont révélées optimales au reflux dans le chloroforme avec un rendement comparable à celui de la littérature.

* La deuxième voie préconisée,¹²⁵ suggère une condensation aldolique du 2-hydroxyacétophénone **161** sur le 3-formylchromone **162** (substrat bon marché) sous catalyse basique du 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) à reflux dans le THF pour produire le benzopyran-4-one **163** avec un rendement optimal de 85%. Dans les deux cas de réaction, le composé désiré **163** a été facilement isolé après recristallisation dans l'éthanol. Les deux réactions sont résumées dans le schéma suivant (Schéma 45).

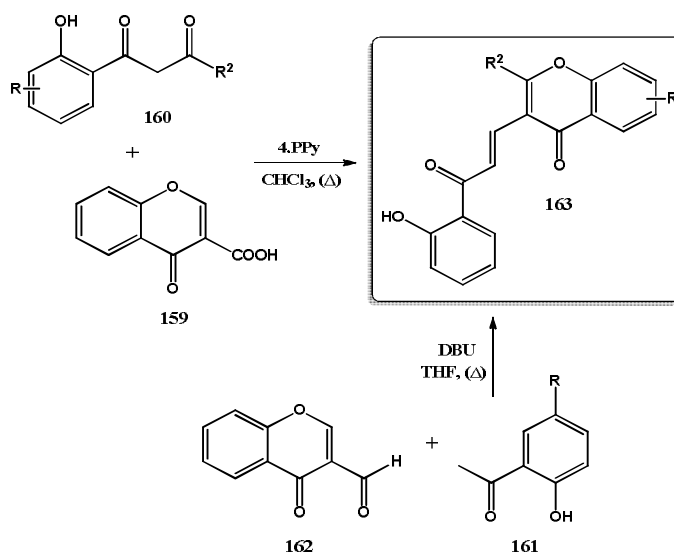


Schéma 45 : Synthèse des dérivés benzopyran-4-ones **163** selon deux voies

¹²⁵Talhi, Oualid, et al., "One-pot synthesis of benzopyran-4-ones with cancer preventive and therapeutic potential." *European Journal of Organic Chemistry* 2016.5 (2016): 965-975.

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

Ainsi, connaissant l'aptitude des benzopyran-4-ones à se transformer en benzophénones (objet de notre travail), nous avons opté de les prendre comme précurseurs dont la réactivité se distingue par la présence, dans la structure, de sites électrophiles.

Après un bref rappel bibliographique non exhaustif sur la formation des benzopyran-4-ones, nous développerons les résultats obtenus lors de ce travail.

II.1. Rappels bibliographiques sur les benzopyran-4-ones

II.1.1. Le motif 4H-Benzopyran-4-one

Le 4H-Benzopyran-4-one, 4H-chromen-4-one ou simplement la chromone est un système hétérocyclique bicyclique contenant de l'oxygène (figure 20) et qui constitue une structure privilégiée en chimie médicinale. L'unité benzopyran-4-one est présente dans de nombreux produits naturels tels que les pigments des feuilles, l'huile d'olive, les fruits et les feuilles d'arbres ainsi que dans les produits synthétiques.¹²⁶Ainsi, le benzopyran-4-one constitue l'épine dorsale de base de divers composés tels que les coumarines, le chromane, les xanthènes, les polyphénols comme le flavonoïde et l'anthocyane.

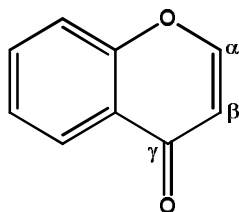


Figure 21 : Motif benzopyran-4-one ou γ -Benzopyrone

II.1.2. Intérêt biologique

La littérature révèle que les benzopyran-4-ones sont des synthons chimiques importants qu'on associe à une large gamme d'effets biologiques, notamment les effets

¹²⁶ (a): Pierpaoli, Elisa., *et al.* "γ-and δ-tocotrienols exert a more potent anticancer effect than α-tocopheryl succinate on breast cancer cell lines irrespective of HER-2/neu expression." *Life sciences* 86.17-18 (2010): 668-675. (b): Middleton, Elliott.,*et al.* "The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer." *Pharmacological reviews* 52.4 (2000): 673-751.

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2-hydroxy-benzophénones substituées

antioxydants,¹²⁷ anti-VIH,¹²⁸ neuroprotecteurs,¹²⁹ antiépileptiques,¹³⁰ antimicrobiens,¹³¹ antidiabétiques,¹³² antihypertenseurs¹³³ et anticancéreux.¹³⁴

II.1.3. Les benzopyran-4-ones en chimie pharmaceutique

La fraction benzopyran-4-one est aujourd'hui un pharmacophore actif utilisé dans des domaines thérapeutiques variés, dans des médicaments tels que le cromolyne (antihistaminique), le nédocromil (anti-allergique, anti-inflammatoire), la diosmine (veinotonique, vasculoprotecteur), le flavoxate (antispasmodique), entre autres.¹³⁵

II.1.4. Préparation des précurseurs benzopyran-4-ones

On recense plusieurs méthodes de préparation des dérivés benzopyran-4-ones qui ont été rapportées dans la littérature. Pour notre part, nous avons utilisé la séquence réactionnelle

¹²⁷ (a): Lee, Heesoon., *et al.* "Synthesis and evaluation of 6-hydroxy-7-methoxy-4-chromanone-and chroman-2-carboxamides as antioxidants." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 15.11 (2005): 2745-2748. (b): Costantino, Luca., *et al.* "1-Benzopyran-4-one antioxidants as aldose reductase inhibitors." *Journal of medicinal chemistry* 42.11 (1999): 1881-1893.

¹²⁸ (a): Kraus, George A., *et al.* "Synthesis of chroman aldehydes that inhibit HIV." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 21.5 (2011): 1399-1401. (b): Tummino, Peter J., *et al.* "Competitive inhibition of HIV-1 protease by 4-hydroxy-benzopyran-2-ones and by 4-hydroxy-6-phenylpyran-2-ones." *Biochemical and biophysical research communications* 200.3 (1994): 1658-1664.

¹²⁹ (a): Koufaki, Maria., *et al.* "Design and synthesis of novel neuroprotective 1, 2-dithiolane/chroman hybrids." *Bioorganic & medicinal chemistry* 17.17 (2009): 6432-6441. (b): Hong, Ki Whan., *et al.* "Neuroprotective Effect of (2S, 3S, 4R)-N"-cyano-N-(6-amino-3, 4-dihydro-3-hydroxy-2-methyl-2-dimethoxymethyl-2H-benzopyran-4-yl)-N'-benzylguanidine (KR-31378), a Benzopyran Analog, against Focal Ischemic Brain Damage in Rats." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 301.1 (2002): 210-216.

¹³⁰ (a): Rawat, P., *et al.* "Synthesis and pharmacological evaluation of 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-N'-(2-oxoindolin-3-ylidene) chromaffin-2-carbohydrazide derivatives as antimicrobial agents." *J Chem Pharm Res* 8.3 (2016): 149-154. (b): Bhat, Mashooq A., *et al.* "Synthesis of novel 3-(4-acetyl-5H/methyl-5-substituted phenyl-4, 5-dihydro-1, 3, 4-oxadiazol-2-yl)-2H-chromen-2-ones as potential anticonvulsant agents." *Acta Pol Pharm* 65.2 (2008): 235-239.

¹³¹ (a): Patil, RAJESH B., *et al.* "Synthesis, docking studies and evaluation of antimicrobial and in vitro antiproliferative activity of 5h-chromeno 4, 3-d pyrimidin-2-amine derivatives." *Int J Pharm Pharm Sci* 7.2 (2015): 304-8. (b): Ahmed, H. A. M. "Synthesis of some novel benzopyranes derivatives and evaluation their biological activity." *SYNTHESIS* 8.4 (2015).

¹³² (a): Nayak, Yogendra., *et al.* "Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-Streptozotocin induced Type 2 diabetes in rats." *The Scientific World Journal* 2014 (2014). (b): Ceylan-Ünlüsoy, M., *et al.* "Synthesis and antidiabetic activity of some new chromonyl-2, 4-thiazolidinediones." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 25.6 (2010): 784-789.

¹³³ Bano, Mohsina., *et al.* "Benzopyran derivatives as cardio-selective ATP-sensitive potassium channel openers: a review." *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 13.12 (2013): 1744-1760.

¹³⁴ Rawat, Pinki., *et al.* "Design and synthesis of chroman derivatives with dual anti-breast cancer and antiepileptic activities." *Drug design, development and therapy* 10 (2016): 2779.

¹³⁵ (a): Keri, Rangappa S., *et al.* "Chromones as a privileged scaffold in drug discovery: A review." *European journal of medicinal chemistry* 78 (2014): 340-374. (b): Edwards, A. M., *et al.* "The chromones: history, chemistry and clinical development. A tribute to the work of Dr REC Altounyan." *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 30.6 (2000): 756.

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2-hydroxy-benzophénones substituées

de la deuxième voie (Schéma 45). Les dérivés benzopyran-4-ones **163 a-e** ont été préparées en une seule étape (Schéma 46).

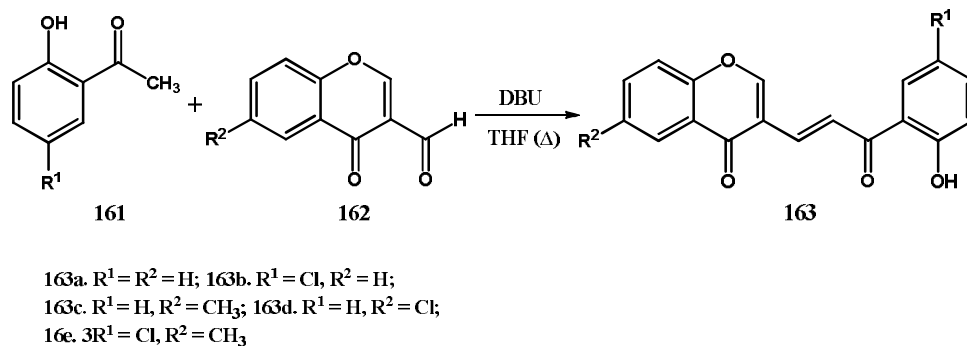


Schéma 46: Synthèse des précurseurs clés benzopyran-4-ones **163a-e**

Les propriétés physiques ainsi que les résultats spectroscopiques des composés préparés sont en bon accord avec les structures proposées et sont conformes à ceux décrits dans la littérature.¹²⁵

II.1.5. Synthèse d'une nouvelle série de structure benzophénone

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouvelles structures de type benzophénones différemment substituées et ce à partir de l'intermédiaire clé benzopyran-4-one **163**. Le choix du synthon **163** est basé sur sa grande réactivité qui est due à la présence de centres électrophiles favorables à diverses fonctionnalisations, ce qui permet l'accès à diverses molécules potentiellement actives.¹²⁵

II.1.5. 1. Etude méthodologique

En nous inspirant des travaux antérieurs cités dans la partie A du chapitre II, nous avons tenté d'accéder aux 2-hydroxy-benzophénones en partant du même synthon "3-[3-(2-hydroxyphenyl)-3-oxoprop-1-èn-1-yl]-4H-chromèn-4-one" **163**.

Nous nous sommes demandés si nous pouvions accéder aux benzophénones via une réaction "one pot" en opposant le dérivé **163** successivement aux réactifs suivants : le cyanoacétohydrazide **108d**, le 4-Méthoxy-benzaldéhyde, l'acide carboxylique 3-chromone,

**CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones :
Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées**

l'acide cyano acétique hydrazide (ACAH) et le phénylthiocyanate. Ces différentes tentatives sont résumées dans le **tableau 8** :

Tableau 8 : Réactifs employés dans la synthèse des benzophénones.

Entrée	Réactif	Solvant	Base	Temp.[°C]	Rdt %
1	Cyanoacétohydrazide 108d	THF	-	ambiante	NR
2	Cyanoacétohydrazide 108d	THF	DBU	reflux	NR
3	4-Méthoxy- benzaldéhyde	THF	-	ambiante	NR
4	Acide carboxylique 3- chromone	THF	-	Reflux	NR
5	Acide cyano acétique hydrazide (ACAH)	THF	-	reflux	NR
6	Phénylthiocyanate	THF	-	ambiante	NR

NR = Pas de réaction.

Quel que soit le réactif employé et les conditions réactionnelles choisies, aucune trace du produit de benzophénone ou de son équivalent n'a pu être décelée dans les bruts réactionnels.

Après divers essais infructueux, nous nous sommes interrogés sur le possible accès aux benzophénones **164** en utilisant le nitrométhane (**Schéma 46**). Cette réaction a conduit, après 48h à 80°C, à la formation du produit souhaité avec un rendement de 67%. Tandis qu'aucune réactivité n'est observée lorsque la réaction est conduite dans le dichlorométhane, à température ambiante ; le produit de départ est entièrement récupéré en fin de réaction (**Entrée 1- Tableau 9**).

Tableau 9 : Effet du solvant dans la synthèse des benzophénones.

Entrée	Réactif	Solvant	Base	Temp.[°C]	Rdt %
1	Nitrométhane	CH ₂ Cl ₂	DBU	ambiante	-
2	Nitrométhane	THF	DBU	Reflux	67

Tous ces essais ont conduit au développement d'une voie très efficace générant les benzophénones souhaitées.

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

II.1.5. 2. Synthèse des dérivés benzophénones 164a-e

Après avoir déterminé les conditions optimales, nous rapportons ici la réaction formelle en "one-pot" de 3-[3-(2-hydroxyphényl)-3-oxoprop-1-èn-1-yl]-4*H*-chromèn-4-ones **163** avec le nitrométhane en présence de la base 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undéc-7-ène (DBU) en tant que catalyseur, au reflux du tétrahydrofurane (THF). Ces conditions ont conduit à la formation exclusive en une seule étape, d'un seul et nouveau produit, les benzophénones **164** désirés avec de bons rendements (60 à 79%). On a procédé à la récupération des composés **164** en utilisant la technique de séparation sur une colonne de gel de silice avec, comme éluant, un mélange de cyclohexane / dichlorométhane.

Pour étudier ultérieurement l'influence des différents substituants sur l'activité anticancéreuse, nous avons préparé cinq composés avec des groupements méthyl et chloro différemment positionnés sur la structure principale de la benzophénone (**Schéma 47**).

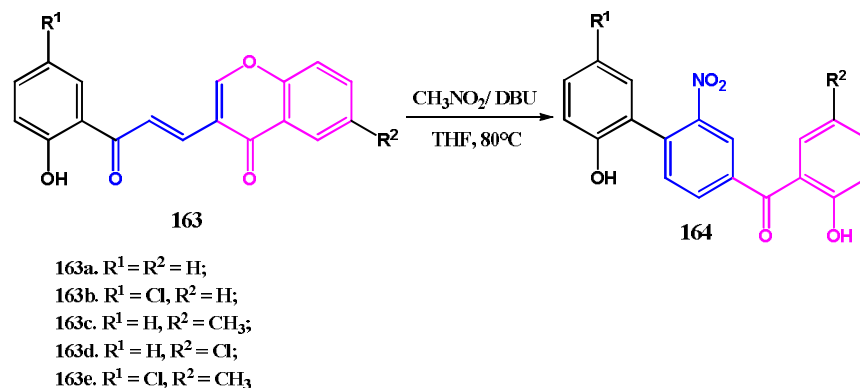


Schéma 47 : Synthèse des composés benzophénones 164a-e

Tableau 10 : Propriétés physiques des benzophénones 164a-e.

Composé	R ¹	R ²	Temps (h)	Rdt*(%)	Pf °C
164a	H	H	48	66	175-176
164b	Cl	H	46	71	170-171
164c	H	CH ₃	46	73	228-229
164d	H	Cl	48	60	235-236
164e	Cl	CH ₃	44	79	182-183

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

*Rendements après purification

II.1.5. 3. Déterminations structurales et discussion sur le mécanisme réactionnel des benzophénones 164a-e

Les structures des nouvelles molécules ont été déterminées par différentes techniques d'analyses : RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN 2D, HRMS et diffraction aux rayons X (DRX).

II.1.5. 3. 1. Caractérisation en spectrométrie de masse des composés 164a-e

La spectrométrie de masse des composés **164** montre la fixation d'une seule molécule de nitrométhane avec perte d'une molécule d'eau au cours de la réaction. Les produits ont été détectés sous la forme cationique $[\text{M}+\text{H}]^+$. Les données spectroscopiques sont en parfait accord avec la structure des composés **164a-e**.

Le tableau **11** indique les masses théoriques et expérimentales obtenues pour l'ion moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Tableau 11 : Spectrométrie de masse des produits **164**.

Composé	m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Théor)	m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Exp)	Formule brute
164a	336.0872	336.0881	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NO}_5^+$
164b	370.0482	370.0477	$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClNO}_5^+$
164c	350.1028	350.1041	$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NO}_5^+$
164d	370.0482	370.0465	$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClNO}_5^+$
164e	384.0639	384.0619	$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClNO}_5^+$

II. 1. 5. 3. 2. Etude par spectroscopie de RMN ^1H , RMN ^{13}C , HSQC, HMBC et NOESY des composés 164a-e :

L'analyse spectrale en RMN ^1H et RMN ^{13}C , ainsi que l'utilisation des techniques de la RMN bidimensionnelle (2D) à champ fort (HMBC, HSQC et NOESY), nous ont permis d'établir, sans aucune ambiguïté, la structure du composé **164a**.

Pris à titre d'exemple, le spectre de RMN ^1H du composé **164a** (Figure **22**) montre clairement un singulet déblindé à $\delta = 11,77$ ppm correspondant à OH en position 2 assurant une liaison hydrogène avec le groupement carbonyle du squelette benzophénone. Un groupe

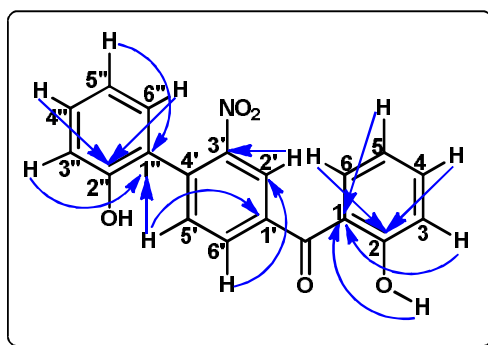


Figure 23: Principales corrélations HMBC observées dans le spectre RMN 2D du composé **164a**

De plus, les spectres NOESY des composés **164a-e** ont été utiles pour déduire les caractéristiques stéréochimiques de la molécule **164**. Des pics croisés de NOE ont été observés entre le signal H-3'' et ceux de OH-2''/ H-4''/ H-6''; H-5' et ceux de H-6'/ H-2'/ H-6''; H-5 et ceux de H-4/ H-6/ H-3; H-3 et ceux de OH-2/ H-4/ H-6 et entre le H-5'' et ceux de H-4''/ H-6''(**Figure 24**).

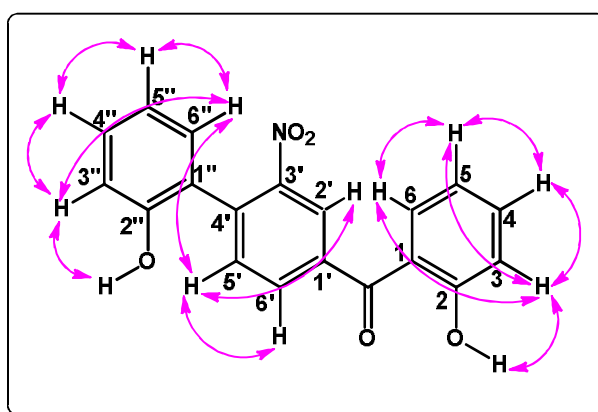


Figure 24 : Principaux effets NOE observés dans les spectres NOESY du composé **164a**

La structure des autres dérivés de benzophénones **164b-e** a été établie par analogie, et par comparaison, avec les spectres RMN ^1H du composé **164a**.

II. 1. 5. 3. 3. Etude cristallographique

Les résultats expérimentaux obtenus, par cette technique d'analyse, montrent bien et sans équivoque que le produit obtenu est le 2-hydroxybenzophénone **164a**, ce qui est en bon accord avec les études RMN 2D. L'essentiel des résultats de cette analyse est exposé dans ce qui suit :

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

Les études de diffraction aux rayons X effectuées sur les cristaux du composé benzophénone **164a** provenant d'un mélange d'hexane: dichlorométhane (1:1) à 6°C, montrent que le composé cristallise dans le groupe spacial centrosymétrique $P2_1/n$, l'unité asymétrique étant composée d'une unité moléculaire entière telle que représentée sur la figure 25.

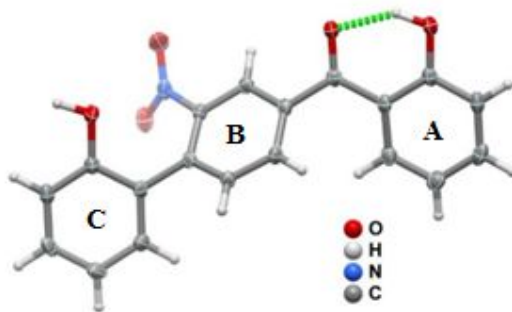


Figure 25 : Représentation schématique de l'unité moléculaire présentée dans **164a**

Généralement, les caractéristiques stéréochimiques de la matrice de benzophénone favorisent un squelette aromatique quasi-planaire. Cependant, dans **164a**, le substituant hydroxy et le groupe nitro électro-attracteur sur les fractions benzéniques augmentent considérablement l'empêchement stérique, éliminant finalement la planarité: bien que les deux cycles aromatiques périphériques (le cycle A et le groupe 4-phényle du cycle B) soient presque co-planaires avec un angle dièdre de $9.20(7)^\circ$, le noyau central B sous-tend les angles de $49.10(7)^\circ$ et $47.79(7)^\circ$ avec ces fragments de manière à réduire l'encombrement stérique global. La molécule a une forte liaison hydrogène intramoléculaire O–H \cdots O qui relie le groupe hydroxy au fragment carbonyle voisin formant un ensemble de graphes discrets S^1_1 (6) (comme illustré à la figure 26; $d_{O \cdots O} = 2,5986(13) \text{ \AA}$ et $\angle(OHO) = 145^\circ$).¹³⁶

L'autre groupe hydroxy du groupe 4-phényle opposé du cycle B est plutôt engagé dans une liaison hydrogène intermoléculaire O–H \cdots O formant un motif d'ensemble de graphes $R^2_2(20)$ ($d_{O \cdots O} = 2,7835(14) \text{ \AA}$ et $\angle(OHO) = 168^\circ$), conduisant finalement à la formation d'un dimère supramoléculaire (figure 26) qui ferme des paquets à l'état solide pour former la structure cristalline du composé **164a** (figure 27). Il convient de noter que les caractéristiques

¹³⁶Grell, Juliana., *et al.* "Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns: some mathematical concepts." *Acta Crystallographica Section B: Structural Science* 55.6 (1999): 1030-1043.

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

structurales observées par les études cristallographiques aux rayons X concordent parfaitement avec les données de RMN relevés pour le dérivé **164a**.

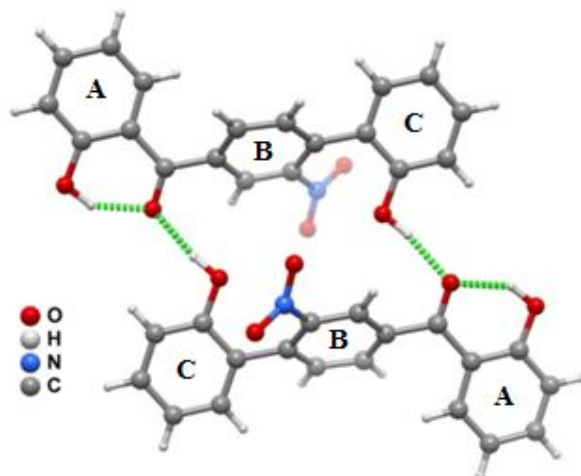


Figure 26 : Représentation schématique du dimère supramoléculaire de deux unités moléculaires **164a** individuelles

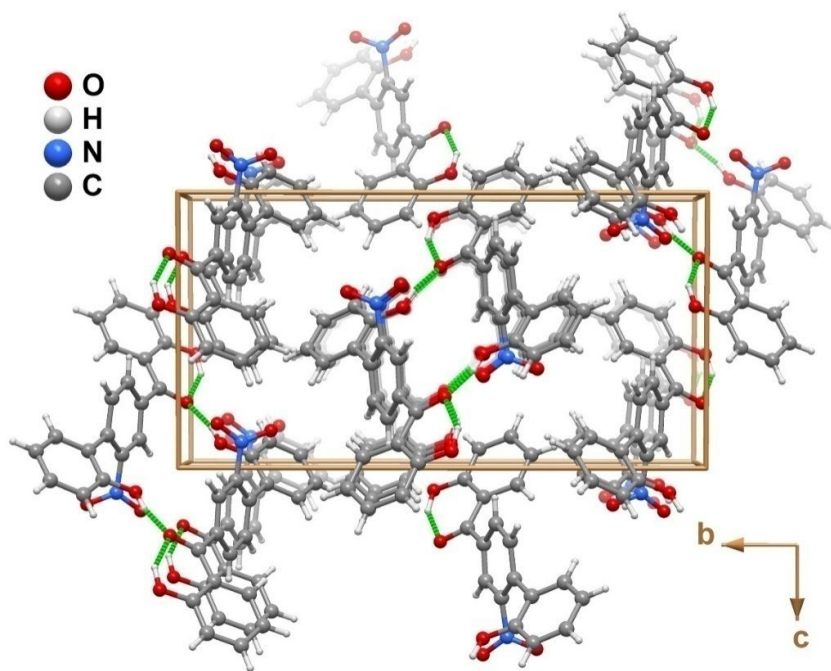


Figure 27 : Représentation schématique de l'empilement cristallin du composé **164a**

CHAPITRE II /Partie B: Exploitation synthétique des benzopyran-4-ones : Synthèse des 2- hydroxy-benzophénones substituées

II. 1. 5. 3. 4. Mécanisme réactionnel

L'ensemble des résultats spectroscopiques et de l'analyse DRX, nous a conduit à proposer le mécanisme réactionnel illustré sur le (Schéma 48).

La réaction est initiée par une attaque nucléophile de l'anion nitrométhane ; issu de la déprotonation par la base DBU; sur le carbone en position 2 de l'unité chromone ce qui provoque l'ouverture du cycle générant l'intermédiaire I. Ce dernier subit une cycloaddition intramoléculaire catalysée par la DBU pour donner l'intermédiaire II, qui élimine une molécule d'eau conduisant à un système plus conjugué, dérivés benzophénones **164a-e**.

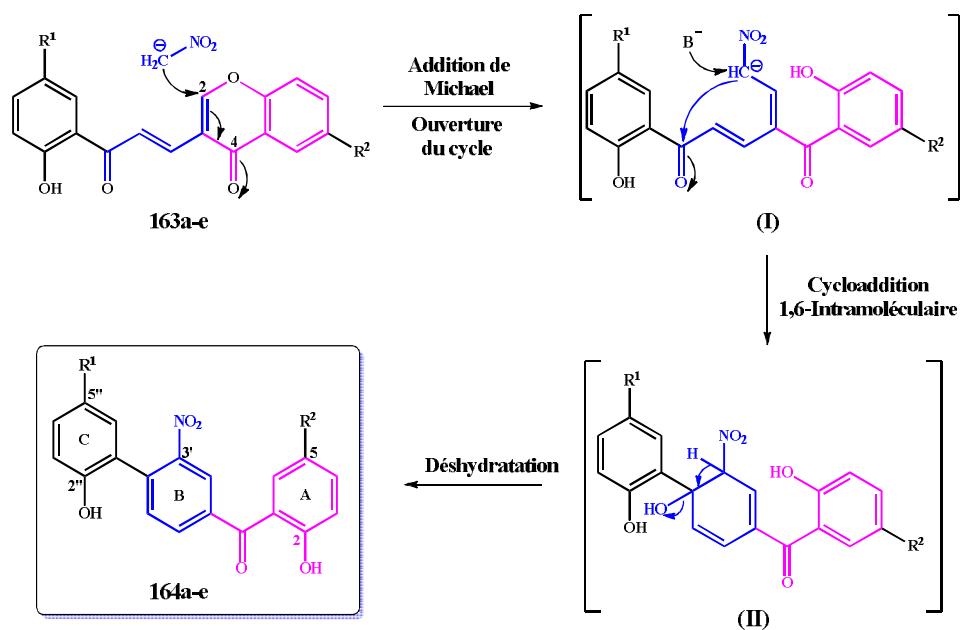


Schéma 48: Mécanisme de formation de benzophénones **164a-e**

III. Conclusion

Dans ce chapitre, Nous avons mis au point un nouveau procédé en tandem impliquant l'addition de Michael / cycloaddition intramoléculaire / déshydratation séquentielle de nitrométhane sur les intermédiaires chromones clés **163a-e** pour donner des benzophénones **164a-e**.

Les structures des nouveaux produits à base de benzophénone **164a-e** sont entièrement élucidées sur la base d'analyses RMN 2D approfondies et étayées par des études de diffraction des rayons X monocristallines pour révéler la description spatiale 3D exacte.

Nous exposerons dans le chapitre suivant les résultats obtenus concernant l'évaluation du potentiel antiprolifératif des benzophénones synthétisés **164a-e** sur différentes lignées cellulaires cancéreuses. Avec ce travail, nous pensons avoir contribué à la recherche de nouveaux agents anticancéreux.

Partie Expérimentale

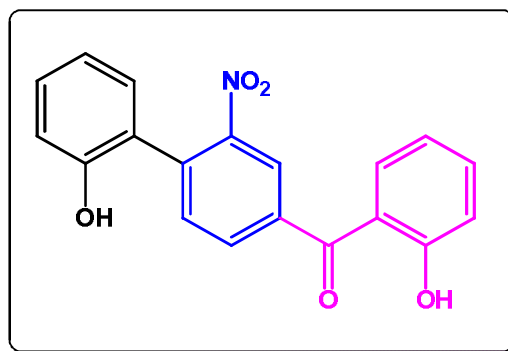
CHAPITRE II /Partie expérimentale

Les points de fusion des composés synthétisés **164** ont été mesurés sur un appareil Büchi Melting point B-545 et ne sont pas corrigés. Les données spectrales RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrées sur un appareil Bruker 400 MHz (pour ^1H) et 100 MHz (pour ^{13}C) dans des solutions de CDCl_3 ou DMSO-d_6 . Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en parties par million (ppm) et les constantes de couplage (valeurs J) sont données en Hz. Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) ont été enregistrés sur un spectromètre Q-TOF (Quadrupole-Time Of Flight) : Analyseur quadripolaire couplé à un analyseur à temps de vol. La Chromatographie sur colonne a été réalisée sur du gel de silice (200 à 300 mesh). Toutes les réactions ont été contrôlées par CCM sur des plaques de gel de silice ou d'alumine et les taches ont été détectées avec une lumière UV (254 nm). Le nitrométhane, le DBU et le THF ont été achetés auprès de Merck ou Sigma-Aldrich et utilisés sans purification préalable.

I. Procédé général de la synthèse des produits 164a-e

À une solution du dérivé (E) -3- [3- (2-hydroxyphényl) -3-oxoprop-1-èn-1-yl] -4H-chromèn-4-one **163 a-e** (3 mmol, 0,88 g **163a** , 0,98 g **163b**, 0,92 g **163c**, 0,98 g **163d**, 1,02 g **163e**) dans du tétrahydrofurane (20 ml) on additionne 0.5 ml du nitrométhane commercial (en excès) et une quantité catalytique de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU). Le mélange résultant a été chauffé à 80 ° C pendant 48 h. Après conversion complète de la matière de départ **163 a-e** (contrôlée par CCM), le mélange a été purifié par Chromatographie sur colonne et recristallisé dans un mélange 1:1 d'hexane-CH₂Cl₂ pour donner les composés **164a-e** souhaités.

4'-(2''-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxybenzophénone (164a)



C₁₉H₁₃NO₅: Cristaux jaunes, M = 335.3102 g/mol, Rdt: 66%, Pf: 175-176°C.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 11.77 (s, 1H, 2-OH), 8.28 (d, *J* 1.7 Hz, 1H, H-2'), 7.97 (dd, *J* 7.9 et 1.7 Hz, 1H, H-6'), 7.65–7.53 (m, 3H, H-5', H-6, H-4), 7.37-7.29 (m, 2H, H-6'', H-4''), 7.15-7.06 (m, 2H, H-5'', H-3), 6.98-6.91 (m, 1H, H-5), 6.87-6.82 (m, 1H, H-3''), 5.25 (s, 1H, 2''-OH) ppm.

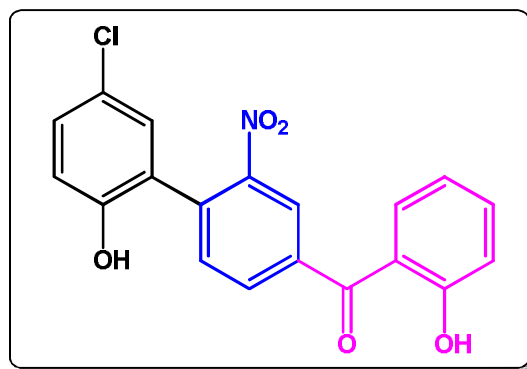
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ(ppm) = 198.5 (C=O), 163.4 (C-2), 152.2 (C-2''), 149.3 (C-3'), 137.8 (C-1'), 137.2 (C-4), 136.1 (C-4'), 133.0 et 132.9 (C-6, C-5', C-6'), 130.5 et 130.0 (C-6'', C-4''), 124.9 (C-2'), 124.2 (C-1''), 121.7 (C-5), 119.2 (C-5''), 118.9 (C-3), 118.6 (C-1), 115.7 (C-3'') ppm.

HRMS-ESI⁺: m/z calculé pour [C₁₉H₁₃NO₅+H]⁺: 336.0872; trouvé: 336.0881.

Données cristallines du composé 164a: C₁₉H₁₃NO₅, M = 335.30, monoclinique, groupespatial P2₁/n, Z = 4, a = 7.5823(12) Å, b = 19.955(3) Å, c = 10.4075(12) Å, β = 93.9570(10)°, V = 1571.0(4) Å³, μ(Mo-Kα) = 0.104 mm⁻¹, D_c = 1.418 mg cm⁻³, incolore, taille de cristal = 0.17 x 0.09 x 0.09 mm³.

Sur un total de 19070 réflexions collectées, 2858 étaient indépendantes ($R_{\text{int}} = 0.0231$). Final $R1 = 0.0539$ [$I > 2\sigma(I)$] et $wR2 = 0.1342$ (toutes les données). Exhaustivité des données à $\theta = 25.24^\circ$, 99.6 %. CCDC 1877190.

4'-(5''-chloro-2''-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxybenzophénone (164b):



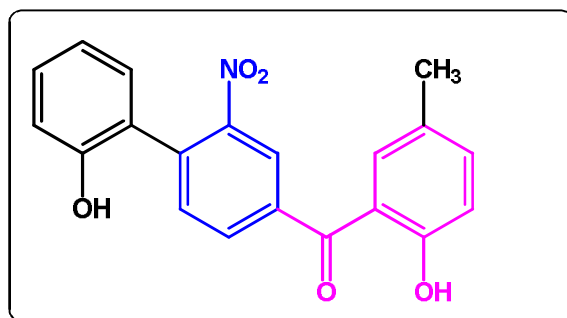
$C_{19}H_{12}ClNO_5$: Solide jaune, $M = 369.7553$ g/mol, Rdt: 71%, Pf: 170-171°C.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 10.39 (s, 1H, 2-OH), 10.21 (s, 1H, 2''-OH), 8.20 (d, J 1.7 Hz, 1H, H-2'), 8.02 (dd, J 8.0, 1.8 Hz, 1H, H-6'), 7.66 (m, 1H, H-5'), 7.51-7.42 (m, 2H, H-4, H-6), 7.39 (d, J 2.6 Hz, 1H, H-6''), 7.30 (dd, J 8.7 et 2.7 Hz, 1H, H-4''), 7.03-6.96 (m, 2H, H-3 et H-5), 6.87 (d, J 8.7 Hz, 1H, H-3'') ppm.

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 194.6 (C=O), 156.7 (C-2), 152.9 (C-2''), 148.8 (C-3'), 137.5 (C-1'), 135.0 (C-4'), 133.8 (C-4), 133.3 (C-6'), 133.0 (C-5'), 130.4 (C-6), 129.6 (C-4''), 128.8 (C-6''), 125.8 (C-1''), 124.2 (C-2'), 124.0 (C-1), 122.9 (C-5''), 119.3 (C-5), 116.8 (C-3), 116.6 (C-3'').

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{19}H_{12}ClNO_5+H]^+$: 370.0482; trouvé: 370.0477.

4'-(2''-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxy-5-méthylbenzophénone (164c):



$C_{20}H_{15}NO_5$: Solide jaune, $M = 349.3368$ g/mol, Rdt: 73%, Pf: 228-229°C.

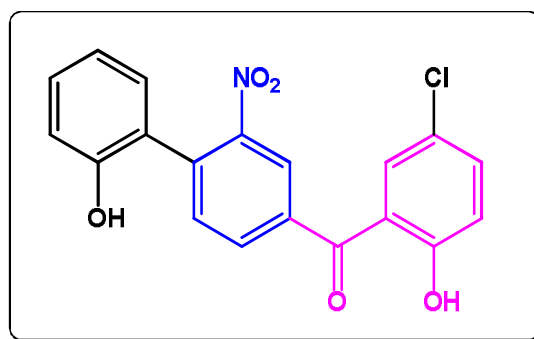
CHAPITRE II/ Partie expérimentale

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 10.16 (s, 1H, 2-OH), 9.90 (s, 1H, 2''-OH), 8.18 (d, *J* 1.7 Hz, 1H, H-2'), 8.02 (dd, *J* 8.0, 1.8 Hz, 1H, H-6'), 7.63 (d, *J* 8.0 Hz, 1H, H-5'), 7.35 – 7.29 (m, 2H, H-4'', H-4), 7.28 – 7.23 (m, 2H, H-6'', H-6), 6.98 – 6.85 (m, 3H, H-5'', H-3, H-3''), 2.27 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 195.3 (C=O), 155.1 (C-2), 154.5 (C-2''), 149.6 (C-3'), 137.6 (C-1'), 137.1 (C-4'), 134.9 (C-4), 133.7 (C-6'), 133.4 (C-5'), 130.8 (C-6''), 130.6 (C-6), 130.1 (C-4''), 128.6 (C-5), 124.7 (C-2'), 124.5 (C-1'), 124.4 (C-1), 120.2 (C-5''), 117.3 (C-3), 115.6 (C-3''), 20.3 (CH₃).

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₂₀H₁₅NO₅+H]⁺: 350.1028; trouvé: 350.1041.

4'-(2''-hydroxyphényl)-3'-nitro-5-chloro-2-hydroxybenzophénone (164d):



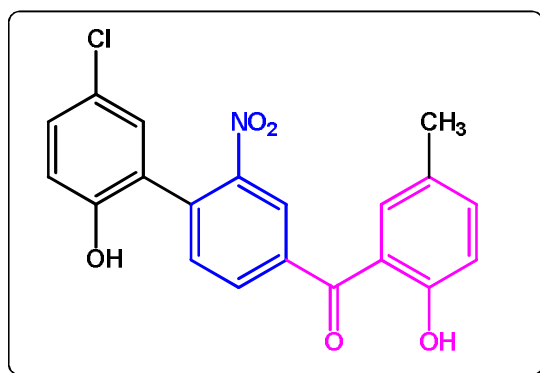
C₁₉H₁₂ClNO₅: Solide jaune, M = 369.7553 g/mol, Rdt: 60%, Pf: 235-236°C.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 10.51 (s, 1H, 2-OH), 9.92 (s, 1H, 2''-OH), 8.21 – 8.19 (m, 1H, H-2'), 8.03 (dd, *J* 8.0 et 1.8 Hz, 1H, H-6'), 7.64 (d, *J* 8.0 Hz, 1H, H-5'), 7.50 (dd, *J* 8.7 et 2.7 Hz, 1H, H-4), 7.45 (d, *J* 2.7 Hz, 1H, H-6), 7.33 (dd, *J* 7.6 et 1.7 Hz, 1H, H-6''), 7.27 – 7.25 (m, 1H, H-4''), 7.05 – 7.02 (m, 1H, H-3), 6.98 – 6.94 (m, 1H, H-5''), 6.88 (dd, *J* 8.1 et 0.8 Hz, 1H, H-3'').

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 193.3 (C=O), 155.2 (C-2), 154.5 (C-2''), 149.7 (C-3'), 137.5 (C-4'), 136.9 (C-1'), 133.8 (C-6'), 133.6 (C-5'), 133.2 (C-4), 130.7 (C-4''), 130.1 (C-6''), 129.6 (C-6), 127.0 (C-1), 124.7 (C-2'), 124.4 (C-1''), 123.5 (C-5), 120.2 (C-5''), 119.0 (C-3), 115.6 (C-3'').

HRMS-ESI⁺: *m/z* calculé pour [C₁₉H₁₂ClNO₅+H]⁺: 370.0482; trouvé: 370.0465.

4'-(5''-chloro-2''-hydroxyphényl)-3'-nitro-2-hydroxy-5-méthylbenzophénone (164e):



$C_{20}H_{14}ClNO_5$: Solide jaune, MW = 383.7819 g/mol, Rdt: 79%, Pf: 182-183 °C.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 11.57 (s, 1H, 2-OH), 8.31 (d, J 1.7 Hz, 1H, H-2'), 7.97 (dd, J 7.9 et 1.7 Hz, 1H, H-6'), 7.60 (d, J 7.9 Hz, 1H, H-5'), 7.41 (dd, J 8.5 et 2.2 Hz, 1H, H-4), 7.35 (dd, J 1.8 et 0.4 Hz, 1H, H-6), 7.33 (d, J 2.5 Hz, 1H, H-6''), 7.30 (dd, J 8.5 et 2.6 Hz, 1H, H-4''), 7.04 (d, J 8.5 Hz, 1H, H-3), 6.82 (d, J 8.5 Hz, 1H, H-3''), 5.25 (s, 1H, 2''-OH), 2.31 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 198.3 (C=O), 161.4 (C-2), 150.9 (C-2''), 149.2 (C-3'), 138.6 (C-1'), 138.4 (C-4), 134.6 (C-4'), 133.0 (C-6'), 132.8 (C-5'), 132.4 (C-6), 130.1 (C-4''), 129.5 (C-5''), 128.5 (C-5), 126.4 (C-5'), 125.9 (C-1''), 125.0 (C-2'), 118.7 (C-3), 118.2 (C-1), 116.9 (C-3''), 20.5 (CH_3).

HRMS-ESI $^+$: m/z calculé pour $[C_{20}H_{14}ClNO_5+H]^+$: 384.0639; trouvé: 384.0619.

CHAPITRE III

Evaluation biologique des produits synthétisés

Partie A

**Activité anticancéreuse des dérivés
benzophénones 164 sur les cellules
tumoraux T47-D et MDA-MB-231 (cancer
du sein) et PC3 (cancer de la prostate)**

I. Introduction

Il y a plusieurs siècles, le cancer n'était pas aussi fréquent. Depuis le 20^{ème} siècle, avec l'accroissement de l'espérance de vie et l'augmentation de l'exposition à des éléments nocifs, le cancer est devenu l'une des principales causes de décès dans le monde. Ainsi, il constitue un enjeu de santé publique considérable d'autant plus que son incidence augmente au cours de ces dernières décennies, avec environ 18 millions de nouveaux cas de cancer en 2018 et un nombre annuel de nouveaux cas qui devrait augmenter jusqu'à 21,6 millions d'ici 2030.¹³⁷

En Algérie, on recenserait 53076 nouvelles personnes touchées par le cancer et plus de 29 000 décès, selon les dernières données du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC).¹³⁸

Le cancer du sein et celui de la prostate apparaissent comme les cancers invasifs les plus courants chez la femme et l'homme, respectivement. Environ 11,6% de nouveaux cas de cancer du sein sont les causes de mortalité la plus élevée chez les femmes avec 626 629 décès estimés en 2018. Le cancer de la prostate est le deuxième avec 13,5% de nouveaux cas en 2018 et 358 989 décès dans le monde.¹³⁷

Le cancer est une maladie dynamique et devient généralement plus hétérogène au cours de l'évolution. Cette hétérogénéité favorise généralement la résistance des cellules cancéreuses au traitement, y compris la chimiothérapie qui représente un défi important dans la découverte de médicaments et également l'une des principales limites du succès du traitement du cancer.¹³⁹

Afin de valoriser les composés préparés dans le cadre de ce travail, il nous a paru intéressant d'évaluer le potentiel anticancéreux des benzophénones **164a-e** issues de nos synthèses (Chapitre II).

Dans ce contexte et en collaboration avec Pr.Luisa A. Helguero et Dr. Djenisa H. A. Rocha (Institut de biomédecine (iBiMED), Département des sciences médicales, Université d'Aveiro, Portugal), les nouvelles molécules de benzophénone synthétisées **164a-e** ont été criblées pour la première fois dans des lignées cellulaires de cancer du sein (MDA-

¹³⁷Bray, Freddie., *et al.* "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries." *CA: a cancer journal for clinicians* 68.6 (2018): 394-424.

¹³⁸Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), (2018).

¹³⁹Dagogo-Jack, Ibiayi., *et al.* "Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies." *Nature reviews Clinical oncology* 15.2 (2018): 81.

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231(cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

MB-231 et T47-D) et de la prostate (PC3) afin de déterminer de quelle manière les composés **164a-e** inhibent ou stoppent la croissance tumorale dans les cellules. Pour cela, nous avons procédé comme suit :

- calculer les valeurs d'IC₅₀ des composés **164a-e** sur trois lignées de cellules cancéreuses,
- déterminer l'effet cytotoxique des benzophénones synthétisées **164a-e** dans les trois lignées cellulaires de cancer,
- réaliser des analyses approfondies sur les effets des composés **164a-e** dans la cellule : effets sur le cycle cellulaire, analyse de la distribution du cycle cellulaire et analyse d'immunofluorescence.

Avant d'entrer dans le vif de notre sujet et exposer les résultats obtenus, il est important de présenter une étude bibliographique globale portant sur le cancer et les principaux traitements anticancéreux classiques ainsi que définir quelques termes utiles afin de mieux saisir les tests adoptés dans le cadre de notre travail.

II. Etude bibliographique

II.1. Origine du mot "cancer"

Le mot cancer tire son origine du mot grec "καρκίνος" qui signifie "crabe"; nom donné par Hippocrate (460-370 avant Jésus Christ) qui, le premier, eut comparé le cancer à un crabe, par analogie à l'aspect des tumeurs du sein avec cet animal : il explique que la tumeur est centrée par une formation arrondie entourée de prolongements en rayons semblables aux pattes d'un crabe.¹⁴⁰

Le cancer est désigné par d'autres termes synonymes employés par les médecins tels que : tumeur maligne, néoplasie, néoplasme, polymitose, carcinome, etc...

II.2. Définition

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération rapide et anarchique de cellules anormales au sein d'un tissu normal de l'organisme, de telle manière que de nombreux processus cellulaires peuvent être modifiés, en particulier le cycle cellulaire et les réponses aux signaux de croissance et de mort cellulaire.

¹⁴⁰Breasted, James Henry. "The Edwin Smith Surgical Papyrus: published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes." (1930).

Lorsque la tumeur croît lentement et reste localisée dans le tissu ou l'organe dans lequel elle est apparue, c'est une tumeur « bénigne », quand elle a tendance à migrer de son lieu de production en envahissant d'autres tissus sains adjacents et provoquer des métastases dans d'autres endroits du corps, c'est une tumeur « maligne » ou « cancéreuse ». Ce sont ces métastases qui font la gravité de la maladie et dans la majorité des cas, le décès.

II.3. Typologie

Le cancer touche la quasi-totalité des tissus de l'organisme d'où les différents types de cancer. Plus de 25 types de cancers sont recensés, celui de la prostate est le plus répandu chez l'homme, viennent ensuite ceux du poumon et de colorectal. Le cancer du sein est le premier cancer féminin en termes de fréquence suivi de ceux de colorectal et du poumon.

II.4. Etiologie du cancer

Plusieurs études ont mis en évidence un certain nombre de facteurs intervenant dans l'étiologie du cancer (entre des facteurs génétiques du sujet et des facteurs extérieurs). Parmi ceux-ci, l'on peut citer:

- les facteurs hormonaux : liés à certains types d'hormones humaines (hormones sexuelles) pouvant causer la transformation maligne des tissus qui sont sensibles à l'action de ces hormones (cancer du sein, du testicule, de la prostate),

- les facteurs biologiques : l'infection chronique par le virus du papillomavirus (cancer du col de l'utérus), virus de l'hépatite B et C (cancer du foie), le virus de l'immunodéficience humaine (sarcome de Kaposi et le lymphome), plus rarement des bactéries *Helicobacter* (cancer gastrique) ou encore plus rarement des parasites schistosomes (cancer de la vessie), la douve du foie (voies biliaires) portant dans leur structure des oncogènes spécifiques, contribuant à modifier le matériel génétique des cellules avec leur malignité ultérieure,

- les facteurs physiques : les différents types de rayonnements ionisants (rayons α , β , rayonnement γ , rayons X, rayonnement neutronique, rayonnement protonique, fragments de fission), la lumière ultraviolette pouvant agir directement au niveau de l'ADN et provoquer des altérations,

- les facteurs chimiques : la consommation de tabac, de l'alcool, l'exposition aux produits nocifs, etc. La caractéristique de ces produits est la capacité à réagir avec l'ADN des cellules, ce qui provoque leur transformation maligne,

- les facteurs génétiques ainsi que ceux liés aux habitudes de vie et à la nutrition.

Des études scientifiques concluent que seuls 5 à 10 % des cas de cancer sont uniquement attribués à des facteurs génétiques contre 25 à 30 % au tabagisme, 30 à 35 % aux régimes alimentaires (dont l'alcool), 15 à 20 % aux infections, et 10 à 25 % aux autres facteurs (rayons ionisants, stress, activité physique insuffisante, pollution de l'environnement).

II.5. Diagnostic et Traitements

Plusieurs traitements permettent de lutter contre le cancer mais leur utilisation varie selon le type, l'emplacement, la structure et le stade de développement de la tumeur.¹⁴¹

Il existe à l'heure actuelle trois principaux moyens pour traiter le cancer :

- la chirurgie : ablation de la tumeur localisée ou de la totalité de l'organe affecté,
- la radiothérapie : utilisée pour traiter les tumeurs indifférenciées, sensibles aux rayonnements. Elle est également utilisée pour la destruction locale de métastases,
- la chimiothérapie : traitement à base de composés chimiques cytotoxiques qui détruisent directement les cellules cancéreuses ou les empêchent de se multiplier.

Ces traitements sont souvent utilisés en association afin de combattre efficacement la tumeur. A ces thérapies s'ajoutent également l'hormonothérapie ou l'immunothérapie dans le cas des cancers avec métastases et sans oublier l'ensemble de soins palliatifs utilisés pour diminuer la douleur et les effets indésirables du traitement.¹⁴²

II.6. Cancer du sein

Le cancer du sein occupe le premier rang des cancers féminins. Il est caractérisé par une prolifération incontrôlée des cellules mammaires. Ces dernières se divisent plus rapidement que les cellules saines et continuent de s'accumuler jusqu'à la formation d'une masse. Les cellules peuvent se propager (métastaser) à l'extérieur du sein par les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques vers les ganglions lymphatiques ou vers d'autres parties du corps.

¹⁴¹Carter, R. L. "Patterns and mechanisms of bone metastases." *Journal of the Royal Society of Medicine* 78.Suppl 9 (1985): 2.

¹⁴²Bernades-Genisson, V., et al. "Traité de chimie thérapeutique-Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers." *Edition Lavoisier, Paris* (2003): P43-176.

La mortalité par cancer du sein est souvent liée à une rechute et/ou à une évolution de la maladie qui n'a pas pu être éradiquée de manière définitive par les traitements. Il s'avère que ces taux de rechute sont plus importants dans le cas des cancers dits agressifs.¹⁴³

II.7. Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le plus fréquent chez l'homme de plus de 50 ans, il est exceptionnel avant 40 ans. Il correspond à la transformation maligne des cellules du revêtement (épithélium) des glandes de la prostate. Cette prolifération tumorale de la prostate est appelée adénocarcinome prostatique. Ces cellules transformées prolifèrent anormalement en envahissant les structures adjacentes et, peuvent acquérir la propriété de migrer en dehors de la prostate en empruntant la circulation lymphatique ou veineuse pour créer des colonies de cellules tumorales prostatiques dans d'autres parties du corps.¹⁴⁴

II.8. Le cycle cellulaire

Le cycle de division cellulaire est le mécanisme fondamental par lequel les êtres vivants se divisent et croissent. Pour produire deux cellules filles identiques, l'ADN doit être répliqué correctement, puis les chromosomes dupliqués doivent être répartis dans les cellules filles.¹⁴⁵

Le cycle cellulaire comprend 2 périodes :

- l'interphase, phase du cycle pendant laquelle la cellule se prépare à la division, elle peut être subdivisée en trois sous phases G1 (Gap 1 = intervalle), S (Synthèse) et G2 (Gap 2)
 - G1 : phase de croissance cellulaire et d'activités métaboliques normales.
 - S : phase de la réplication de l'ADN (la quantité d'ADN est doublée en vue de la mitose)
 - G2 : phase préparant la mitose (synthèses d'enzymes, d'organites...)
- la phase M (Mitose) termine ce cycle et donne naissance à deux cellules filles identiques. **(figure28)**

¹⁴³ Solomon, V. Raja., *et al.* "Hybrid pharmacophore design and synthesis of isatin-benzothiazole analogs for their anti-breast cancer activity." *Bioorganic & medicinal chemistry* 17.21 (2009): 7585-7592.

¹⁴⁴ Martin, P.-M., *et al.* "Évolution de la cellule normale à la cellule cancéreuse prostatique hormonodépendante-hormono-indépendante." *Médecine Nucléaire* 32.1 (2008): 5-23.

¹⁴⁵ Meijer, Laurent. "Le cycle de division cellulaire et sa régulation." *ONCOLOGIE-PARIS*- 5.7/8 (2003): 311-326.

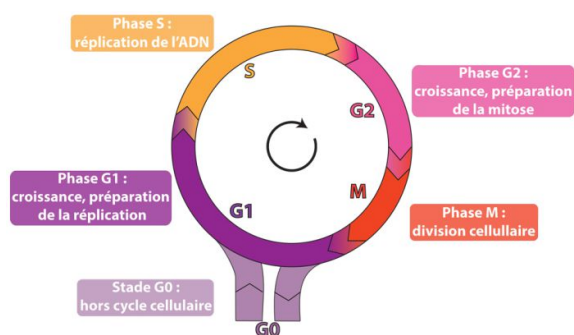


Figure 28 : Différentes phases du cycle cellulaire

II.9. Les lignées cellulaires cancéreuses

La lignée cellulaire est l'un des outils principaux utilisés dans les études précliniques en cancérologie. Des quantités importantes de données sur le cancer ont été obtenues ces 40 dernières années grâce à l'utilisation de ces modèles.

Les premières lignées ont été établies dans les années 60 et 70 et très peu de lignées ont été développées depuis.

Les trois lignées cellulaires cancéreuses humaines qui ont été choisies pour évaluer les activités biologiques des dérivés de la benzophénone synthétisés **164a-e** (Chapitre II) sont:

- la lignée d'adénocarcinome mammaire humain oestrogéno-indépendante, **MDA-MB-231**. Cette lignée provient d'une effusion pleurale, d'une patiente caucasienne de 51 ans présentant un cancer du sein métastatique,¹⁴⁶

- la lignée T-47D de type luminal non métastatique, a été isolée par I. Keydar à partir d'un épanchement pleural d'une patiente âgée de 54 ans atteinte d'un carcinome intra-canalair et invasif du sein,¹⁴⁷

- la lignée cellulaire PC3, prostatique hormono-indépendante, a été établie en 1979 à partir de métastases osseuses de grade IV de cancer de la prostate chez un homme caucasien de 62 ans.¹⁴⁸

III. Etude du potentiel cytotoxique des dérivés de la benzophénone 164 chez les lignées cellulaires cancéreuses du sein et de la prostate

¹⁴⁶ Soule, H. D., *et al.* "A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma." *Journal of the national cancer institute* 51.5 (1973): 1409-1416.

¹⁴⁷Keydar, I., *et al.* "Establishment and characterization of a cell line of human breast carcinoma origin." *European Journal of Cancer* 15.5 (1979): 659-670.

¹⁴⁸ Kaighn, M. E., *et al.* "Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3)." *Investigative urology* 17.1 (1979): 16.

III.1. Matériel et méthodes

III.1.1. Culture de cellules

La culture cellulaire est une méthode permettant la survie, la division et la prolifération cellulaire in vitro en présence des milieux de culture qui doivent reproduire les mêmes conditions trouvées in vivo.

III.1.2. Mise en culture des cellules

Les cellules sont cultivées en monocouche dans un milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium), milieu de base nécessaire au maintien et à la prolifération des cellules, pour la lignée cellulaire MDA-MB-231 et dans un milieu RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium), utilisé pour la culture de cellules humaines ou de tissus isolés, pour les lignées cellulaires T47-D et PC3, supplémenté avec 10% de sérum bovin fœtal (FBS) (Gibco™ by Life Technology) et 1% de solution de pénicilline / streptomycine (PEST; Gibco™). Les cultures cellulaires ont été maintenues à 37°C sous atmosphère humide contrôlée et enrichie à 5% de CO₂.

III.1.3. Réactif et composés testés

Les composés **164a-e** ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir une concentration de stock de 100 µM. Ensuite, des dilutions en série ont été préparées dans un milieu de croissance. La concentration maximale de DMSO appliquée aux cellules était de 0,1% v/v pour éviter les effets toxiques associés à des concentrations plus élevées de ce solvant.

III.1.4. Détermination de la viabilité cellulaire

Pour notre étude, la viabilité cellulaire a été évaluée à l'aide du test PrestoBlue™ (Life technologies).

III.1.4.1. Le principe

C'est une méthode de dosage par fluorescence, utilise le pouvoir réducteur des cellules vivantes actives pour transformer le réactif résazurine (7-hydroxy-3H-phénoxazin-3-one 10-

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231(cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

oxyde), de couleur bleu perméable aux cellules et pratiquement non-fluorescent, en résorufine, produit rouge fortement fluorescent.

La résazurine est principalement utilisée comme un indicateur d'oxydo-réduction dans des analyses de viabilité cellulaire.

III.1.4.2. Protocole expérimental

Les dilutions en série allaient de 10 à 100 μM pour couvrir une large échelle de génération de courbes dose-réponse. Dans toutes les expériences, le solvant DMSO seul a été utilisé comme témoin négatif. Dix mille cellules / puits ont étéensemencées dans des plaques à 96 puits et laissées adhérer pendant 24h.

Les cellules ont ensuite été exposées aux composés d'essai (benzophénones **164**) dilués dans le milieu de culture pendant 48 h (200 μL), après ce temps, 100 μL du milieu de culture ont été remplacés par la solution d'essai pendant 24 heures supplémentaires. Par la suite, la viabilité cellulaire a été évaluée en utilisant 100 μL /puits du réactif PrestoBlueTM. Les valeurs considérées après 3h d'incubation se situaient dans la plage linéaire de la lecture.

Les valeurs IC₅₀ d'au moins trois expériences indépendantes ont été calculées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 6.00).

La doxorubicine a été utilisée comme médicament de référence et appliquée sur les cellules en maintenant les mêmes conditions expérimentales utilisées pour tester les benzophénones **164a-e**.

III.2. Résultats et discussions

L'effet cytotoxique in vitro des benzophénones **164a-e** nouvellement synthétisées a été déterminé dans deux lignées cellulaires de cancer du sein humain (T47-D et MDA-MB-231) et une lignée cellulaire de cancer de la prostate (PC3). Nous avons commencé les études cytotoxiques en utilisant une courbe de concentration de 100 μM -10 nM avec un facteur de dilution de 10 (10, 100 nM, 1, 10, 100 μM).

Tous les composés testés ont présenté une cytotoxicité totale ou presque totale à des concentrations de 100 μM , mais aucun effet n'a été observé à des concentrations inférieures à 10 μM .

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231(cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

Par conséquent, la plage de concentration de 10 à 100 μM (10, 25, 50, 75, 100 μM) a été étendue pour couvrir des valeurs toutes les 0,25 unités afin de permettre le calcul des valeurs de IC_{50} (tableau 12, figure 29).

Tableau 12. Evaluation de la cytotoxicité in vitro des composés **164a-e** contre les lignées cellulaires du cancer du sein humain (T47-D et MDA-MB-231) et du cancer de la prostate (PC3)

Composés	MM (g)	MDA-MB-231 $\text{IC}_{50} \mu\text{M}^{(a)}$	T47-D $\text{IC}_{50} \mu\text{M}^{(a)}$	PC-3 $\text{IC}_{50} \mu\text{M}^{(a)}$
164a	335.32	76.78 ± 3.75	11.37 ± 1.46	60.67 ± 5.21
164b	369.76	28.09 ± 0.39	14.40 ± 6.19	43.17 ± 6.38
164c	349,34	36.40 ± 2.14	$44,00 \pm 2.56$	34.75 ± 6.03
164d	369.76	48.06 ± 6.27	66.13 ± 2.53	43.15 ± 0.71
164e	383.78	26.49 ± 0.95	12.09 ± 1.07	23.32 ± 0.05
Doxorubic	543.52	1.51 ± 0.97	0.13 ± 0.003	0.73 ± 0.14

^(a) IC_{50} déterminée par la méthode PrestoBlue après 72h d'incubation du composé. Chaque valeur est la moyenne ($\text{IC}_{50} \pm \text{ET}$) de deux expériences indépendantes réalisées en quadruple.

La comparaison des résultats obtenus a révélé des différences significatives entre les effets de chaque composé sur les trois lignées cellulaires étudiées :

- l'ordre d'activité cytotoxique des composés testés a été déterminé comme suit:
 - T47-D > PC3 > MDA-MB-231 pour le composé **164a**;
 - T47-D > MDA-MB-231 > PC3 pour le composé **164b**;
 - MDA-MB-231 = PC3 > T47-D pour le composé **164d**;
 - T47-D > MDA-MB-231 = PC3 pour le composé **164e**;
 - Aucune différence notable n'a été observée pour le composé **164c**.
- les composés **164a**, **164b** et **164e** ont présenté l'effet cytotoxique le plus élevé dans la lignée cellulaire T47-D avec des valeurs d' IC_{50} allant de 10 à 15 μM ,
- les composés **164b** et **164e** ont présenté l'effet cytotoxique le plus élevé dans les lignées cellulaires MDA-MB-231, avec des valeurs IC_{50} d'environ 25 à 28 μM ,
- le composé **164e** a présenté l'effet cytotoxique le plus élevé, avec des valeurs d' IC_{50} inférieures à 25 μM dans la lignée cellulaire PC3,
- Le contrôle positif utilisé dans cette étude, la doxorubicine, a donné une IC_{50} inférieure à 1 μM pour PC3 et T47-D et inférieure à 2 μM pour MDA-MB-231 (tableau 12),

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231 (cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

• La benzophénone **164e** la plus active est environ 17 fois moins active dans MDA-MB-231, 93 fois moins active dans T47-D et 31 fois moins active dans PC3 que la doxorubicine. Cependant, ces résultats ne prennent pas en compte la biodisponibilité in vivo.

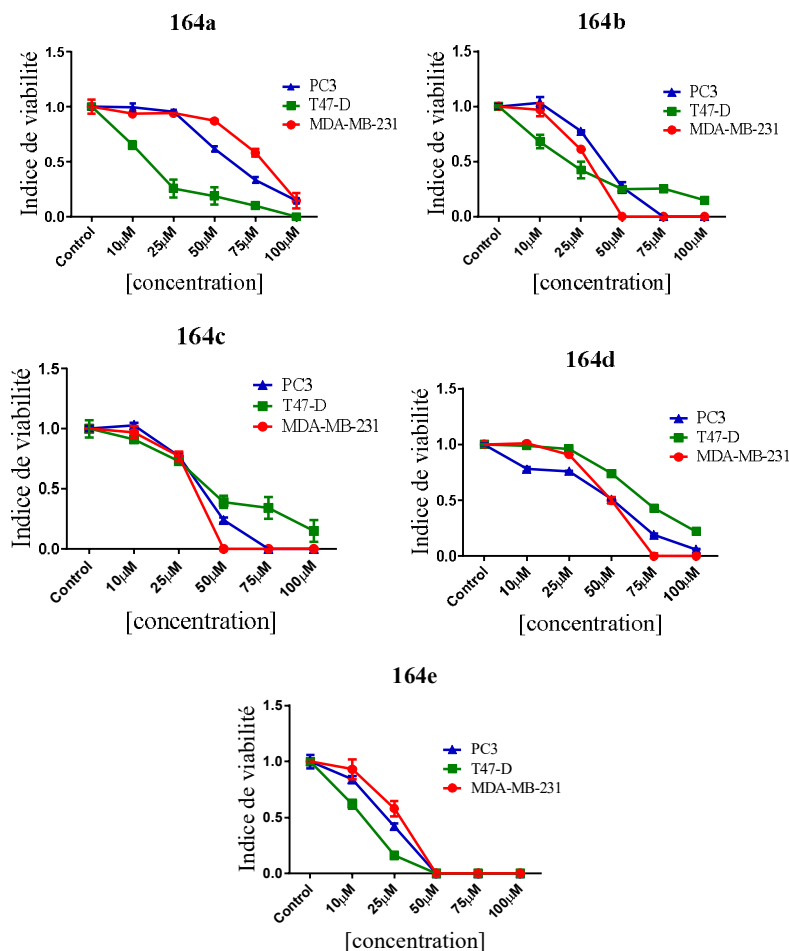


Figure 29 : Effets du traitement à la benzophénone **164a-e** sur la viabilité des cellules cancéreuses. Les cellules ont été traitées avec une gamme de concentrations de 10 à 100 µM de composé pendant 72 h. Représentatif de deux expériences indépendantes réalisées en quadruple. Les graphiques montrent la moyenne $\pm \sigma$ d'une expérience représentative

III.3. Relation structure-activité (SAR)

L'activité antiproliférative in vitro de la benzophénone **164a** sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 et PC3 était relativement faible ($IC_{50} > 50 \mu M$). Avec un substituant chloro placé en position R^1 (composé **164b**, schéma **47** (Chapitre **II**)), la cytotoxicité dans MDA-MB-231 a été améliorée de 76,8 (**164a**) à 28,1 (**164b**) et de 60,7 (**164a**) à 43,2 (**164b**) dans PC3. La présence d'un substituant méthyle en position R^1 (composé **164c**) a également conduit à une cytotoxicité accrue dans les deux lignées cellulaires métastatiques (tableau **12**).

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231(cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

Le composé **164d** partageant un substituant chloro en position R² était environ 1,5 fois plus puissant que **164a** dans les lignées cellulaires MDA-MB-231 et PC3. Cependant, l'effet du composé **164e** portant des substituants méthyle et chloro aux positions R¹ et R² respectivement, a montré de meilleurs résultats présentant une puissance d'environ 2,9 fois plus dans MDA-MB-231 et 2,6 fois plus dans PC3 que le composé non substitué **164a**.

En conclusion, la présence de substituants méthyle et chloro est en faveur d'une cytotoxicité accrue dans les cellules cancéreuses métastatiques.

Dans le cas des cellules cancéreuses T47-D, un substituant chloro en position R¹ (composé **164b**) a montré une cytotoxicité similaire à celle du composé non substitué **164a**, cependant, la présence d'un substituant méthyle en position R¹ (composé **164c**) a donné une activité 4 fois moins importante que celle de **164a**. Le composé **164d**, avec un substituant chloro en position R², était 6 fois moins actif que **164a**.

III.4. Effet cytostatique et cytotoxique du composé 164e

Étant donné que le composé **164e** a montré l'effet le plus puissant dans la réduction de la viabilité cellulaire des trois lignées cellulaires cancéreuses testées, nous avons décidé d'étudier ses effets cytostatiques et l'induction de la mort cellulaire.

Initialement, les lignées de cellules cancéreuses humaines MDA-MB-231, T47-D et PC3 ont été exposées au composé **164e** à la concentration IC₅₀ et la distribution du cycle cellulaire a été analysée après 24 et 48 h d'exposition à l'iodure de propidium (IP) pour déterminer la teneur en ADN cellulaire par cytométrie en flux.

Dans les lignées cellulaires T47-D et MDA-MB-231, le composé **164e** n'avait pas d'effet significatif sur le pourcentage de cellules dans chaque phase du cycle cellulaire (figure 30)

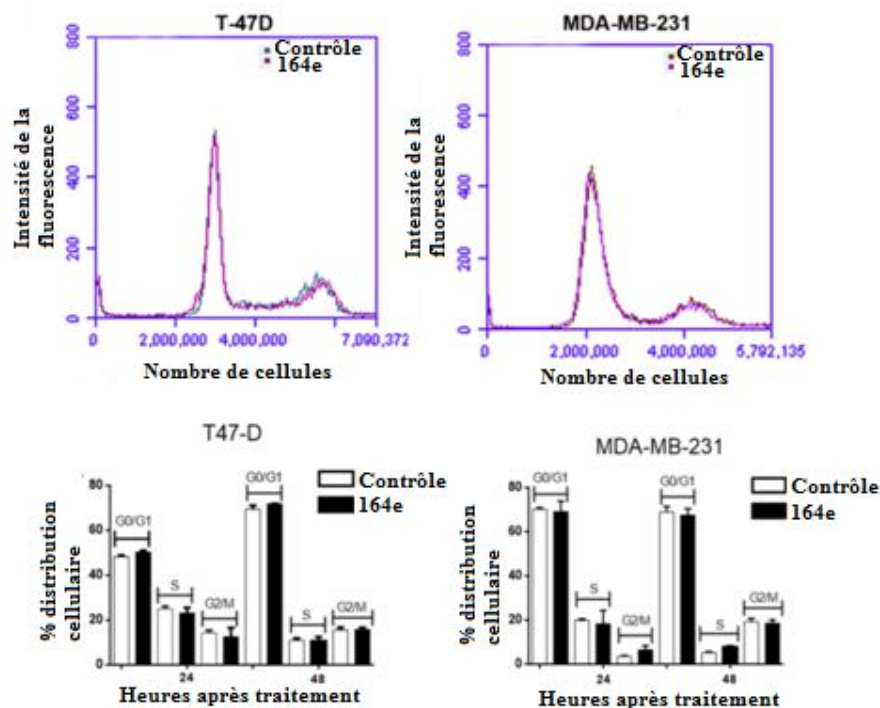


Figure 30: Effet du composé **164e** sur le cycle cellulaire. Exemple représentatif de la distribution cellulaire tout au long du cycle cellulaire analysé par cytométrie en flux. Effets du composé **164e** sur la progression du cycle cellulaire de **MDA-MB-231** et **T47-D** traités avec une concentration équitoxique (IC_{50}), ou DMSO (contrôle) pendant 24 et 48h. Les graphiques à barres montrent la quantification de la distribution cellulaire. Les résultats sont exprimés en moyenne de deux expériences indépendantes réalisées en double \pm écart-type (σ)

Nous avons confirmé que dans MDA-MB-231, l'indice de coloration Ki67 évalué après 24 et 48 heures de traitement avec le composé **164e** n'a pas changé de manière significative, ce qui n'indique aucun effet sur la division cellulaire.

Cependant, visuellement, nous avons pu confirmer que la quantité de cellules T47-D et MDA-MB-231 restante dans la boîte après traitement avec le composé **164e** était beaucoup plus faible que dans le contrôle (figure 31: seules les cellules MDA-MB-231 sont présentées), qui est en corrélation avec l'observation d'une proportion plus élevée de cellules flottantes après 24 h de traitement.

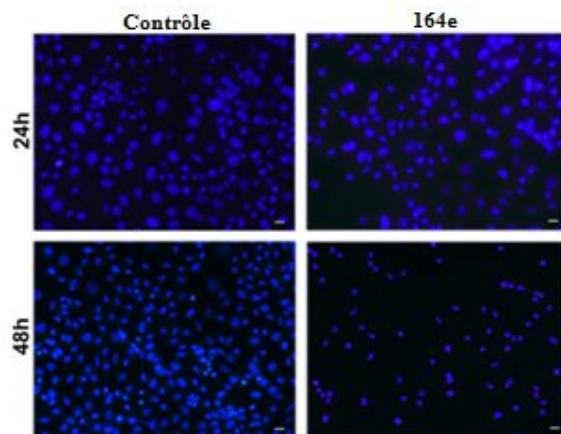


Figure31 : Images représentatives des noyaux de cellules MDA-MB-231 (bleu) après incubation avec du DMSO (contrôle) ou du composé **164e** à 26,49 uM (valeur IC₅₀) pendant 24 ou 48 h

Dans la lignée cellulaire PC3, le traitement avec le composé **164e** a induit un retard du cycle cellulaire. Après 24h, le composé induit une augmentation de 8% du nombre de cellules en phase G0 / G1 et une diminution des cellules en phases S et G2 / M, par rapport au témoin (p <0,05). Après 48h, nous avons observé une diminution de 15% du pourcentage de cellules en phase G0 / G1 par rapport aux cellules du contrôle et un enrichissement des cellules en phase G2 / M, ce qui suggère un léger effet cytostatique au point de contrôle G1 qui est surmonté (figure 32, panneau de gauche).Le pourcentage de mort cellulaire après 24 et 48 h d'incubation a également augmenté (figure 32, panneau de droite).

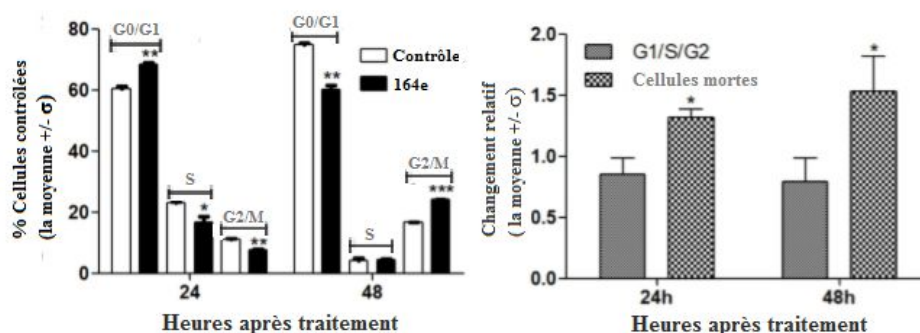


Figure32 : Effets du composé **164e** sur la lignée cellulaire PC3. Progression du cycle cellulaire de PC3 traité avec une concentration équitoxique (IC₅₀), ou DMSO (contrôle) pendant 24 et 48 h, exprimée dans la barre graphique comme moyenne écart-type (σ)(de deux expériences indépendantes en double ** p <0,01 par rapport au contrôle DMSO; * p <0,05 contre le contrôle DMSO; *** p <0,001 par rapport au contrôle DMSO (panneau de gauche).

CHAPITRE III / Partie A: Activité anticancéreuse des dérivés benzophénones 164a-e sur les cellules tumorales T47-D et MDA-MB-231(cancer du sein) et PC3 (cancer de la prostate)

Nombre de cellules mortes et total des cellules cycliques par rapport au contrôle DMSO obtenu par analyse de cytométrie en flux. * $p < 0,05$ contre le contrôle DMSO (panneau de droite).

L'effet sur le cycle cellulaire a été confirmé en utilisant la coloration Ki67. L'indice Ki67 après incubation avec le composé **164e** était inférieur à celui du DMSO déjà incubé pendant 24 h. De plus, de la même manière que nos observations dans les cellules T47-D et MDA-MB-231, nous avons détecté un nombre plus élevé de cellules flottantes, ce qui suggère que le composé **164e** est également cytotoxique dans les cellules PC3. Par conséquent, le composé **164e** réduit le nombre de cellules PC3 grâce à des effets cytostatique et cytotoxique dans les cellules PC3 (figure 33).

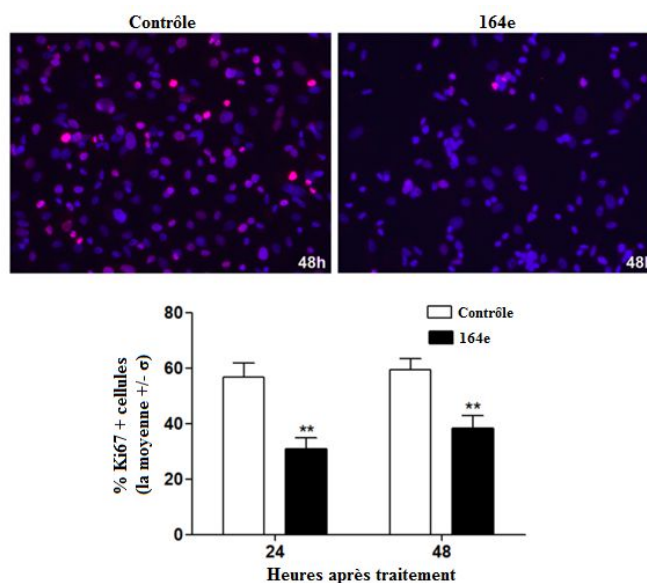


Figure 33 : Images représentatives de la coloration Ki67 après 48 h d'incubation avec le composé **164e** (noyaux en bleu; Ki67 en rouge). Le graphique à barres montre l'indice Ki67 (Ki67 positif / nombre total de cellules) après incubation avec du DMSO (contrôle) ou composé **164e** à 23,32 μM . Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type ($\pm \sigma$) de deux expériences indépendantes en duplicate ** $p < 0,01$ par rapport au contrôle DMSO

Il est intéressant de noter que les composés **164b** et **164e**, avec un groupe chloro sur le cycle C, a l'effet le plus cytotoxique sur les lignées cellulaires MDA-MB-231 et T47-D par rapport au composé **164d** ayant un groupe chloro sur le cycle A. Apparemment, la présence du substituant chloro au niveau du cycle C est importante pour l'effet cytotoxique. Ces

résultats confirment l'effet des substituants chloro sur les lignées cellulaires cancéreuses rapportées précédemment.¹⁴⁹

III.5. Analyse de la distribution du cycle cellulaire

Les cellules MDA-MB-231, T47-D et PC3 ont été traitées avec la concentration IC₅₀ du composé **164e** pendant 24 et 48 h. Le DMSO a été utilisé comme solvant témoin.

Les cellules ont été détachées avec de la trypsine et recueillies par centrifugation à 2500 rotation/ min pendant 10 minutes. Les culots cellulaires ont été remis en suspension dans 300 µL de tampon phosphate salin (PBS) froid et 700 µL d'éthanol glacé (99%) ont été ajoutés goutte à goutte, tout en agitant doucement au vortex.

Les échantillons ont été conservés à -4°C jusqu'à l'acquisition des données. Pour l'analyse du cycle cellulaire, les cellules ont été centrifugées à 2500 tr/min pendant 10 minutes, le PBS / RNase A (tampon phosphate salin /endoribonucléase) a été ajouté et les cellules ont encore été incubées pendant 30 minutes à 37 ° C et colorées avec PI. Les données ont été obtenues en analysant 10 000 événements dans un cytomètre en flux BD Accuri C6. L'analyse des données a été effectuée à l'aide du logiciel d'analyse BD Accuri C6. Des expériences ont été réalisées dans des doublons expérimentaux et au moins deux expériences indépendantes ont été réalisées pour chaque lignée cellulaire.

III.6. Analyse d'immunofluorescence

Les cellules MDA-MB-231 et PC3 ont étéensemencées sur des verres de couverture et traitées pendant 24 et 48 h avec la concentration IC₅₀ du composé **164e** ou le même volume de DMSO comme solvant témoin. Après incubation, les cellules ont été lavées avec du PBS et fixées dans du paraformaldéhyde à 4%. Ensuite, ils ont été lavés avec du PBS et incubés avec du TritonX-100 à 0,5% dans du PBS à température ambiante pendant 10 minutes. Après perméabilisation, les cellules ont été lavées et colorées avec l'anticorps Ki67 Rabbit Abcam # 15580 (1: 1000) à 4 °C pendant une nuit. Ensuite, les cellules ont été lavées avec 0,05% de Tween dans du PBS trois fois et colorées avec l'anticorps anti-lapin Alexa 568 Fluor (1: 400; Invitrogen) à température ambiante pendant 30 min. Les lames ont été lavées plusieurs fois avec du PBS et les noyaux colorés avec du DAPI (0,1 mg / ml) pendant 10 min à température

¹⁴⁹ (a) Liu, Chang., *et al.* "Synthesis and biological evaluation of novel human Pin1 inhibitors with benzophenone skeleton." *Bioorganic & medicinal chemistry* 20.9 (2012): 2992-2999.

ambiante dans l'obscurité. Les images ont été capturées à l'aide d'un microscope inversé Nikon Ti et en conservant les mêmes paramètres pendant toutes les acquisitions. Adobe Photoshop a été utilisé pour concevoir les figures, si nécessaire, des filtres d'amélioration ont été appliqués de la même manière à tous les éléments des figures.

IV. Conclusion

Les nouvelles molécules de benzophénone **164a-e** ont été criblées pour la première fois dans des lignées cellulaires de cancer du sein (MDA-MB-231 et T47-D) et de la prostate (PC3) présentant une inhibition de croissance de l'ordre de 10 à 20 μM et un potentiel de bonne biodisponibilité orale. Le composé **164e** comportant les différents substituants était le plus puissant de toutes les benzophénones testées.

Le composé **164e** a montré un effet cytotoxique clair dans les trois lignées cellulaires testées, mais a, uniquement, inhibé la progression du cycle cellulaire dans la lignée cellulaire de cancer de la prostate. Dans cette dernière, le composé **164e** a induit un retard du cycle cellulaire et une augmentation de la mort cellulaire par effet cytotoxique.

Des études moléculaires plus détaillées sont nécessaires pour apporter des éclaircissements sur l'utilisation de la benzophénone **164e** comme pharmacophore et comprendre son action spécifique sur les interactions entre la membrane mitochondriale, les protéines et les glycoprotéines. Il est également important de déterminer l'effet spécifique des différents substituants présents sur le squelette de la benzophénone.

Partie II

Evaluation de l'activité antioxydante

despyrazolopyridinones 110a-k,

pyrazolones 111a-cet

pyrazolopyrimidinones 111d-e

I. Introduction

Le corps humain possède un système complexe de défenses antioxydantes naturelles enzymatiques et non enzymatiques qui neutralisent les effets nocifs des radicaux libres et d'autres oxydants. Les radicaux libres sont responsables d'un grand nombre de maladies dont le cancer, les maladies cardiovasculaires, les troubles neuroaux, la maladie d'Alzheimer, le vieillissement, l'artériosclérose, et autres. La protection contre les radicaux libres peut être renforcée par un apport suffisant en antioxydants.¹⁵⁰

Les agents antioxydants sont des molécules qui ont la capacité de réagir avec les radicaux libres de manière à inhiber ou réduire les dommages cellulaires, donc, ils sont très utiles pour améliorer la qualité de vie en prévenant ou en retardant l'apparition de maladies dégénératives.

En s'appuyant sur cette vision, il devient indispensable d'intensifier l'effort de recherche pour développer de nouvelles molécules, de formulations aisées et peu coûteuses, possédant une capacité antioxydante importante.

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des composés **108**, **110** et **111** (Chapitre I) en tant qu'antioxydants. Des méthodes in vitro distinctes sont décrites afin de comparer les propriétés biologiques de tous les composés synthétisés.

Après une introduction décrivant les tests antioxydants utilisés, on présentera les résultats obtenus pour les composés testés.

II. Stress oxydant

Le stress oxydant est souvent associé au vieillissement cellulaire et à de nombreuses pathologies.¹⁵¹ En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres oxygénés (ROS), suite à un

¹⁵⁰ (a) : Kinnula, Vuokko L., *et al.* "Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors." *Free Radical Biology and Medicine* 36.6 (2004): 718-744.(b): Smith, Mark A., *et al.* "Oxidative stress in Alzheimer's disease." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1502.1 (2000): 139-144. (c) Sas, Katalin., *et al.* "Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders." *Journal of the neurological sciences* 257.1-2 (2007): 221-239.

¹⁵¹Halliwell, Barry., *et al.* "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease." *Biochemical journal* 219.1 (1984): 1-14.

déséquilibre lié à une surproduction de composés pro-oxydants ou à un déficit en substances antioxydantes.¹⁵²

II.1. Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires qui confèrent à ces molécules une grande instabilité et une très haute réactivité donc une demi-vie courte.¹⁵³

Les espèces radicalaires (électrophiles) vont tenter de rattraper les électrons célibataires en agressant les molécules voisines et obtenir ainsi un état plus stable. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde.¹⁵⁴ Cette perte caractéristique d'un électron correspond au phénomène d'oxydation et les radicaux libres sont donc considérés comme des agents oxydants puisqu'ils incitent les molécules à donner des électrons.¹⁵⁵

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme mais à des concentrations élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose.¹⁵⁶

II.2. Formes des radicaux libres

Parmi les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, on cite celles basées sur le type de radical en donnant deux principaux groupes:

- les ROS (Reactive oxygen species) : présentant un groupe de composés dérivés de la réduction incomplète de l'oxygène moléculaire comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), les radicaux hydroxyle (OH^{\cdot}), peroxy (RO_2^{\cdot}), alkoxy (RO^{\cdot}) et perhydroxyle (HO_2^{\cdot}). Les ROS (les espèces réactives de l'oxygène) sont des médiateurs importants de la signalisation pendant

¹⁵²Sies, Helmut. "Oxidative stress: from basic research to clinical application." *The American journal of medicine* 91.3 (1991): S31-S38.

¹⁵³ Ortiz, Genaro G., et al. "Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach." *Clinical and developmental immunology* 2013 (2013).

¹⁵⁴Afanas'ev, Igor B. Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals. *CRC Press*, (2009).

¹⁵⁵ Gilgun-Sherki, Yossi., et al. "Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier." *Neuropharmacology* 40.8 (2001): 959-975.

¹⁵⁶Favier, Alain. "Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique." *Actualité chimique* 11/12 (2003): 108-117.

divers processus biologiques y compris des facteurs de croissance, des cytokines et des facteurs chimiotactiques.¹⁵⁷

- les RNS (Reactive nitrogen species): le représentant majeur des RNS est le monoxyde d'azote (NO•). Ce dernier, espèce très réactive, représente le messenger moléculaire idéal, il est impliqué dans le règlement d'un certain nombre de fonctions y compris la tension artérielle, phagocytes et l'activité antimicrobienne, homéostasie endothéliale et neuronale, adhérence de plaquette et de leucocyte et l'induction de l'apoptose.¹⁵⁸

II.3. Le stress oxydant

Lors d'un stress oxydant, les radicaux libres non détoxiqués par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN),¹⁵⁹ causant ainsi de nombreuses pathologies telles que: l'Alzheimer, les cancers, les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'hypertension, les inflammations, les maladies hépatiques et neurodégénératives.¹⁶⁰

II.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables, à concentration relativement faible par rapport à celle du substrat, de prévenir les dommages cellulaires causés par l'oxydation de ce substrat. Ils peuvent agir en piégeant les radicaux libres ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci.¹⁶¹ Ainsi, un équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants est nécessaire pour un bon fonctionnement physiologique.

Il existe deux classes d'antioxydants: les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et

¹⁵⁷(a): Merksamer, Philip I., *et al.* "The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link." *Aging (Albany NY)* 5.3 (2013): 144.(b): Zhou, Yijiang., *et al.* "Reactive oxygen species in vascular formation and development." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2013 (2013).

¹⁵⁸De Marco, Federico. "Oxidative stress and HPV carcinogenesis." *Viruses* 5.2 (2013): 708-731.

¹⁵⁹Menon, Ramkumar. "Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology." *Frontiers in immunology* 5 (2014): 567.

¹⁶⁰Valko, Marian.,*et al.* "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." *The international journal of biochemistry & cell biology* 39.1 (2007): 44-84.

¹⁶¹(a): Halliwell, Barry. "Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease." *The American journal of medicine* 91.3 (1991): S14-S22. (b): Rahal, Anu.,*et al.* "Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay." *BioMed research international* 2014 (2014).

glutathion peroxydase tandis que les antioxydants exogènes sont apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation.

II.5. Les dérivés pyrazoliques à activité antioxydante

Un certain nombre d'études ont montré que quelques dérivés pyrazoliques sont de puissants antioxydants.^{162, 163} Ils retardent ou inhibent les dommages cellulaires en inhibant ou en éteignant les réactions des radicaux libres.^{164,165} En se référant au mécanisme antioxydant de l'Edaravone, la double liaison C=C formée par l'action de la tautomérie du groupe carbonyle sur la pyrazolone a été considérée comme importante.¹⁶⁶ A la lumière du motif de structure de la 4-aminoantipyrine (Ampyrone), le dérivé de base de Schiff **1** (figure **34**) a été préparé et déterminé pour l'activité antioxydante.¹⁶⁷ Le dérivé **165** a exercé un puissant effet antioxydant avec une valeur IC₅₀ de 31,26 mM.

Gaffer et ses collaborateurs¹⁶³ ont dépisté l'activité antioxydante d'un groupe de dérivés de thiazolyl-pyrazolone par un test de décoloration des cations radicalaires au 2,2'-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS). Les composés **166** et **167** (figure **34**) ont présenté un pouvoir antioxydant plus fort avec l'inhibition de 88,6% et 85,7%, respectivement.

On note peu de publications décrivant l'activité antioxydante des composés pyrazoliques condensés à la pyridine ou à la pyrimidine, cependant nous avons relevé un exemple pertinent pour chaque classe de ces composés : le composé **168** (pyrazolopyridinone) qui fut synthétisé par El-Borai et al.¹⁶⁸ présentait de bonnes propriétés antioxydantes selon la

¹⁶²Parmar, Narsidas., *et al.* "Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of some 5-pyrazolone based Schiff bases." *Journal of Saudi Chemical Society* 19.1 (2015): 36-41.

¹⁶³Gaffer, H. E., *et al.* "Synthesis and antioxidant activity of some new thiazolyl-pyrazolone derivatives." *Journal of Heterocyclic Chemistry* 54.1 (2017): 331-340.

¹⁶⁴Young, I. S., *et al.* "Antioxidants in health and disease." *Journal of clinical pathology* 54.3 (2001): 176-186.

¹⁶⁵Nimse, Satish Balasaheb., *et al.* "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms." *Rsc Advances* 5.35 (2015): 27986-28006.

¹⁶⁶Higashi, Yukihito., *et al.* "Edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one), a novel free radical scavenger, for treatment of cardiovascular diseases." *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery* 1.1 (2006): 85-93.

¹⁶⁷Alam, Mohammad Sayed., *et al.* "Synthesis, molecular structure and antioxidant activity of (E)-4-[benzylideneamino]-1, 5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3 (2H)-one, a Schiff base ligand of 4-aminoantipyrine." *Journal of Chemical Crystallography* 42.2 (2012): 93-102.

¹⁶⁸ El-Borai, Mohamed A., *et al.* "Microwave-assisted synthesis of some new pyrazolopyridines and their antioxidant, antitumor and antimicrobial activities." *European journal of medicinal chemistry* 66 (2013): 415-422.

méthode de piégeage du radical libre DPPH. L'évaluation de l'activité antioxydante du composé pyrazolo[1,5-a]pyrimidine **169** s'est également avérée importante.¹⁶⁹

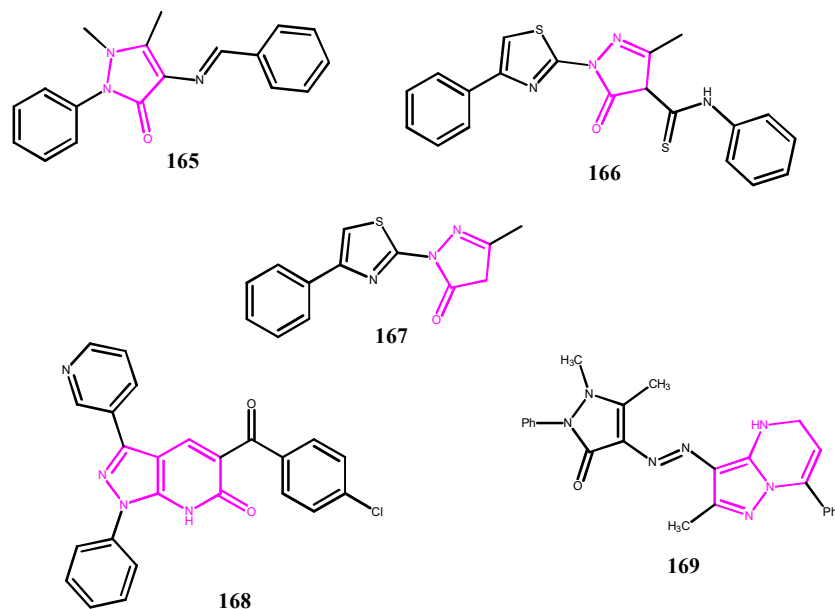


Figure 34 : Dérivés pyrazoliques à activité antioxydante

II.6. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante peut être évaluée en utilisant plusieurs méthodes qui diffèrent entre elles par le type de radical utilisé. En général, il s'agit de mesures indirectes du pouvoir antioxydant qui consistent à quantifier la disparition ou la formation d'un produit spécifique.

II.6.1. Différents tests d'activité antioxydante in vitro

Plusieurs méthodes spectrophotométriques sont disponibles pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres. Les méthodes in vitro distinctes utilisées à cet effet sont:

- le test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]);
- le test de l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}) ;
- le test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique (NO[•]);
- le test de piégeage du radical superoxyde (O₂^{•-}).

¹⁶⁹Metwally, M. A., *et al.* "3-Iminobutanenitrile as building block for the synthesis of substituted pyrazolo [1, 5-a] pyrimidines with antitumor and antioxidant activities." *International Journal of Modern Organic Chemistry* 1 (2012): 96-114.

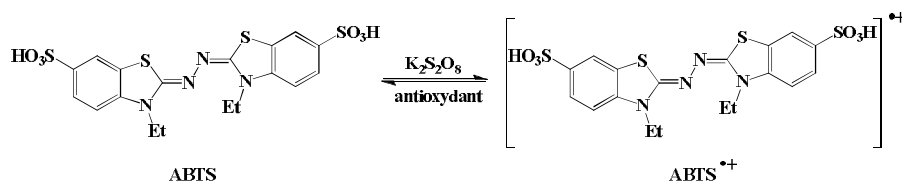


Figure 36 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H

II.6.1.3. Test de piégeage des radicaux d'oxyde nitrique (NO[•])

Le piégeage in vitro du radical NO est l'une des méthodes qui peuvent être utilisées pour déterminer l'activité antioxydante. NO est un agent potentiellement toxique avec un caractère radical libre et par conséquent responsable de nombreux événements physiologiques et pathologiques.¹⁷³

La procédure est basée sur le principe que le nitroprussiate de sodium Na₂[Fe(CN)₅NO] en solution aqueuse à pH physiologique génère spontanément de l'oxyde nitrique qui interagit avec l'oxygène pour produire des ions nitrites qui peuvent être estimés à l'aide du réactif de Griess. Les piègeurs d'oxyde nitrique entrent en compétition avec l'oxygène, ce qui réduit la production d'ions nitrites.¹⁷⁴

II.6.1.4. Le piégeage du radical superoxyde (O₂^{•-})

L'anion radical superoxyde (O₂^{•-}) est le résultat de l'apport d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène, radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques.¹⁷⁵ Bien que le radical superoxyde soit un oxydant faible, il produit en fin de compte des radicaux hydroxyles puissants et dangereux ainsi que de l'oxygène singulet, contribuant tous les deux au stress oxydatif.¹⁷⁶

Le mécanisme du système non enzymatique est basé sur le piégeage des superoxydes O₂^{•-} qui sont générés dans un système PMS-NADH (phénazine méthosulfate-nicotinamide

¹⁷³Marcocci, Lucia., *et al.* "The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761." *Biochemical and biophysical research communications* 201.2 (1994): 748-755.

¹⁷⁴Ebrahimzadeh, M. A., *et al.* "Antioxidant and free radical scavenging activity of H. officinalis L. var. angustifolius, V. odorata, B. hyrcana and C. speciosum." *Pak J Pharm Sci* 23.1 (2010): 29-34.

¹⁷⁵Gardès-Albert, M., *et al.* "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène." *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris: Lavoisier* (2005): 1-23.

¹⁷⁶Meyer, Anne S., *et al.* "Application of enzymes as food antioxidants." *Trends in Food Science & Technology* 6.9 (1995): 300-304.

adénine dinucléotide) par oxydation du NADH et dosés par réduction du NBT (nitro bleu tétrazolium). Les antioxydants agissent comme un piègeur des radicaux superoxydes, en concurrence avec le NBT.

II.7. Évaluation de l'aptitude du composé à piéger des radicaux libres

Il est nécessaire de combiner des tests différents et complémentaires pour avoir une indication exacte sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. Dans notre étude, nous avons mesuré l'activité antioxydante avec quatre différents tests :

II.7.1. Protocole expérimental du test DPPH

La méthode de piégeage des radicaux libres α , α -diphényl- β -picrylhydrazyl (DPPH[•]) offre la première approche pour évaluer le potentiel antioxydant des composés synthétisés.

L'activité de piégeage des composés synthétisés contre le radical DPPH[•] a été réalisée selon la méthode de Blois¹⁷⁷ avec quelques modifications.

II.7.1.1. Préparation des solutions

Une solution mère de DPPH éthalonique est préparée extemporanément à 8.66×10^{-5} M en dissolvant 3.4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol sous agitation à l'abri de la lumière. Une solution mère d'acide ascorbique[®] à 98 % de pureté est réalisée à 2 mM dans le méthanol. Les solutions mères des produits à tester sont préparées à 2 mM dans le méthanol.

II.7.1.2. Mode opératoire

Le test s'effectue dans une microplaque transparente à 96 puits. Dans chaque puits sont introduits dans l'ordre :

- 50 μ l de chaque concentration testée de chaque composé en essai triple.
- 250 μ l de la solution de DPPH de façon simultanée
- une gamme étalon est réalisée dans les mêmes conditions avec différentes concentrations d'acide ascorbique[®] (témoin positif)

Dans un premier test, les dilutions des échantillons testés sont comprises entre 1 et 50 puis l'intervalle est réduit autour de l'IC₅₀ estimée. Chaque concentration est testée 3 fois et chaque échantillon est testé en triplicatas.

¹⁷⁷Blois, Marsden S. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." *Nature* 181.4617 (1958): 1199-1200.

Après incubation de la microplaque à température ambiante pendant 30 min dans l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc contenant 50 µl de méthanol et 250 µl de la solution DPPH•.

II.7.2. Protocole expérimental du test ABTS^{•+}

II.7.2.1. Préparation des solutions

Pour le test ABTS, la procédure est celle de Re. *et al.*,¹⁷⁸ avec quelques modifications. La solution mère d'ABTS^{•+} est préparée en mélangeant une solution aqueuse d'ABTS à 7 mM, obtenue en dissolvant 38 mg d'ABTS dans 10 ml d'eau, avec 6.6 mg de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) à 2,4 mM. Le mélange réactionnel a été conservé dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 h pour achever la génération de radicaux.

Avant utilisation, la solution est diluée avec de l'eau jusqu'à ce que son absorbance atteigne 0,750-0,800 à 734 nm. Une solution fraîche d'ABTS est préparée pour chaque essai.

Une solution mère d'acide ascorbique® à 98 % de pureté est réalisée à 2 mM dans le méthanol.

II.7.2.2. Mode opératoire

Dans chaque puits de la microplaque, 50 µl de composés de concentrations données réagissent avec 250 µl de la solution ABTS. L'absorbance est ensuite mesurée à 734 nm après 20 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. Chaque concentration est effectuée en triplicatas.

II.7.3. Protocole expérimental du test NO•

L'effet de piégeage des composés synthétisés contre le radical oxyde nitrique (NO•) a été évalué selon la méthode de Bor.¹⁷⁹

¹⁷⁸Re, Roberta., *et al.* "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999): 1231-1237.

¹⁷⁹Bor, Jung-Yi., *et al.* "Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables." *Journal of agricultural and food chemistry* 54.5 (2006): 1680-1686.

II.7.3.1. Préparation des solutions :

• **Solution Tampon de phosphate de potassium à 100 mM (1 L) :**

- dissoudre 13.61 g de phosphate de potassium dans 800 mL d'eau,
- ajuster le pH à 7,4 avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 2 M,
- transférer la solution dans une fiole jaugée et porter le volume à 1 L.

• **Solution Nitroprussiate de sodium (SNP) à 3,33 mM (0,2 mg / mL) :** dissoudre 2 mg de SNP dihydraté dans 10 mL de la solution tampon.

• **Réactif de Griess:** préparé avec un volume égal de Griess A et de Griess B (par exemple 3 ml + 3 ml).

- **Griess A:** dissoudre 1g de sulfanilamide ($C_6H_8N_2O_2S$) dans 100 mL d'acide phosphorique H_3PO_4 5%.

- **Griess B:** dissoudre 0,1g de dichlorhydrate de N-(1-naphtyl) éthylènediamine ($C_{12}H_{16}Cl_2N_2$) dans 100 ml d'eau puis conserver les deux solutions Griess A et Griess B au réfrigérateur (4 °C) et à l'abri de la lumière.

• **Acide ascorbique:** dissoudre 10 mg d'acide ascorbique dans 5 mL de DMSO puis préparez 6 dilutions de cette solution.

• **Contrôle :** 100 µl (DMSO) + 100 µl (SNP) + 100 µl (Griess).

• **Echantillons:** 100 µl (composé) + 100 µl (SNP) + 100 µl (Griess).

II.7.3.2. Mode opératoire

100 µl de la solution SNP sont placés, en présence de 100 µl d'échantillon (ou de solution de référence (acide ascorbique®)), sur des puits de la microplaque. Cette dernière est incubée sous une lampe fluorescente à température ambiante pendant 15 minutes afin de générer les nitrites (NO_2^-). Après incubation, 100 µl de réactif de Griess sont ajoutés et la microplaque est maintenue à température ambiante dans l'obscurité pendant 10 minutes. L'absorbance du chromophore qui s'est formé pendant la diazotation du nitrite avec la sulfanilamide et le couplage ultérieur avec le dichlorhydrate de N-(1-naphtyl) éthylènediamine a été mesurée à 562 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

II.7.4. Protocole expérimental du test O₂^{•-}

L'activité de piégeage des anions superoxyde a été mesurée par la réduction du nitrobluetetrazolium (NBT) selon une méthode précédemment rapportée avec quelques modifications.¹⁸⁰

II.7.4.1. Préparation des solutions

- **Solution tampon phosphate à 20 mM, pH = 7.4 :**
 - dissoudre 2.72 g de phosphate de sodium dihydrogéné NaH₂PO₄.H₂O dans 800 ml d'eau,
 - ajustez le pH à 7.4 avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 2 M,
 - ajuster le volume à 1L.
- **Le Nitro bleu tétrazolium (NBT) à 0.2 mM:** dissoudre 3.3 mg de NBT dans 20 ml de la solution tampon préalablement préparée.
- **Le β-nicotinamide adénine dinucléotide (β-NADH) à 0,3 mM:** dissoudre 12.78 mg de NADH dans 60 ml d'eau.
- **Phénazine méthosulfate (PMS) à 0,03 mM:** prélever 4.5 µl de la solution mère (0,1M) et la diluer dans 30 ml d'eau puis la conserver au congélateur.
- **Trolox :** dissoudre 3mg de trolox dans 1ml de DMSO.

II.7.4.2. Mode opératoire

Les radicaux superoxydes ont été générés dans un mélange réactionnel contenant 75µL de NBT, 100 µL de la solution β-NADH, 75 µL de différentes concentrations des composés synthétisés et à la fin ajouter 50 uL de la solution PMS. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 5 minutes, et l'absorbance à 562 nm est mesurée. L'acide gallique a été utilisé comme contrôle positif.

II.8. Discussion des résultats

Les potentialités antioxydantes des composés synthétisés **108a-e**, **110a-k**, **111a-c** et **111d-e** à (2mM) sont détaillées dans le tableau **13** et **14** en termes de pourcentage d'inhibition (% d'inh) ou IC₅₀ et comparés à deux antioxydants de références : les acides ascorbique et gallique.

¹⁸⁰Valentao, P., *et al.* "Antioxidant activity of Centaurium erythraea infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49.7 (2001): 3476-3479.

CHAPITRE III / Partie B : Évaluation de l'activité antioxydante des pyrazolopyridinones 110a-k, pyrazolones 111a-c, pyrazolopyrimidinones 111d-e

II.8.1. Pourcentage d'inhibition

La capacité à éliminer les radicaux (% d'inhibition) a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{cont}} - \text{Abs}_{\text{comp}}) / \text{Abs}_{\text{cont}}] \times 100$$

Où Abs_{cont} = Absorbance du contrôle et Abs_{comp} = Absorbance des composés testés/ standard.

La diminution de l'absorbance des composés testés indique une plus grande activité de balayage des radicaux libres.

Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition des composés synthétisés (2mM) pour les tests DPPH•, ABTS•+ et O2•-.

Séries	Composés	% d'inhibition (DPPH•)	% d'inhibition (ABTS•+)	% d'inhibition (O2•-)
Précurseurs	108a	88.03	94.06	12.1
	108b	87.8	94	14.92
	108c	85.15	92.5	22.02
	108d	87.73	94.46	20.65
	108e	90.1	92	29.57
Pyrazolo-pyridinones	110a	18.45	37.1	25.62
	110b	24.08	39.33	29.42
	110c	23.72	26.24	37.95
	110d	24.86	29.48	33.17
	110e	24.94	36.88	29.65
	110f	25.33	16.33	31.22
	110g	26.82	32.3	30.85
	110h	25.1	25.64	41.12
	110i	24.51	12.25	44.2
	110j	29.53	5.9	56.95
Pyrazolones	110k	9.86	59.15	56.42
	111a	56.62	74.81	18.47
	111b	56.84	78.16	23.12
Pyrazolo-pyrimidinones	111c	55.89	74.89	26.72
	111d	15.16	8.9	28.3
	111e	19.16	21.87	37.17
Antioxydants de référence	Acide ascorbique(1mM)	91	92	-
	Acide gallique (0.5mM)	-	-	88

On peut remarquer que ces séries présentent des pourcentages d'inhibition très variés allant de 6 à 94%. Les résultats seront discutés par type de test :

CHAPITRE III / Partie B : Évaluation de l'activité antioxydante des pyrazolopyridinones 110a-k, pyrazolones 111a-c, pyrazolopyrimidinones 111d-e

• pour le test DPPH• (tableau 13), on en déduit que les composés **108a-e** (précurseurs) présentent l'activité de piégeage la plus élevée (85 à 90%) observée dans toutes les séries. Les composés **110a-k**, **111a-c** et **111d-e** montrent une activité antioxydante faible à moyenne allant de 9 à 56 % contre 91% d'acide ascorbique pour 1 mM de concentration.

À titre d'exemple, la figure 37 montre la variation de l'absorbance par rapport à la concentration des différents composés **108a-e**, **111a-c**, **111d-e** et du standard **acide ascorbique**.

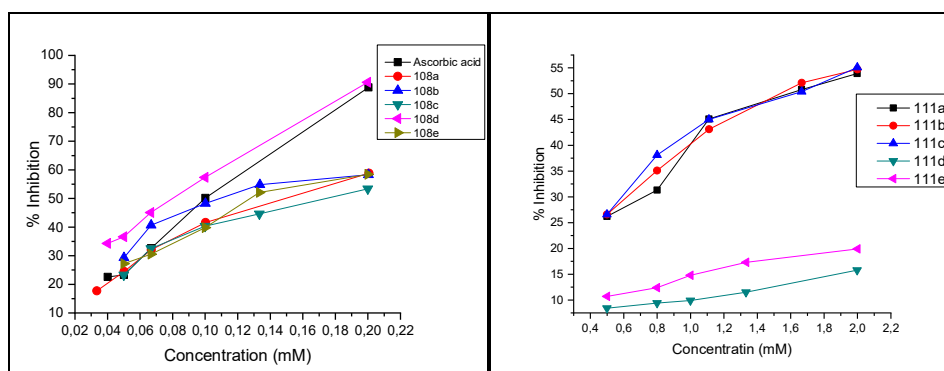


Figure 37 : Pourcentage d'inhibition de la DPPH• en fonction des concentrations de **108a-e**, **111a-c**, **111d-e** et du standard acide ascorbique

• pour le test ABTS•⁺ : les composés **108a-e** présentent toujours la meilleure activité antioxydante (92 à 94%) suivis des composés pyrazolones **111a-c** (74 à 78%) contre 92% d'acide ascorbique pour 1 mM de concentration. (tableau 13, figure 38)

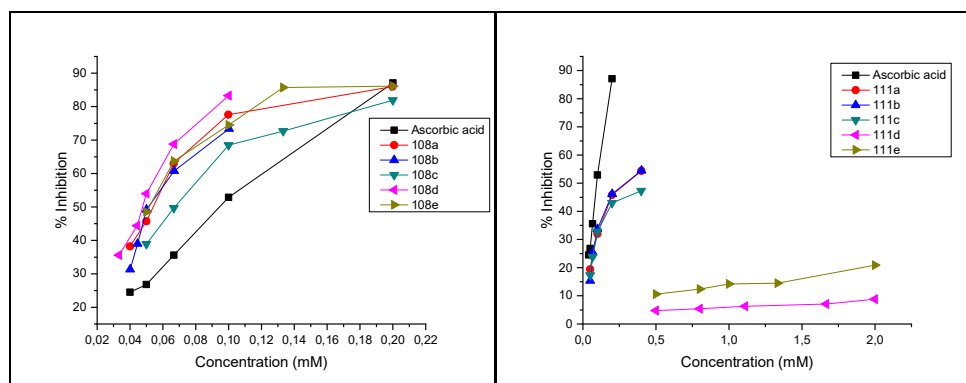


Figure 38 : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS•⁺ en fonction des concentrations de **108a-e**, **111a-c**, **111d-e** et du standard acide ascorbique

• pour le test $O_2^{\bullet-}$: contrairement aux résultats des méthodes antioxydantes ci-dessus, les composés synthétisés ont montré de faibles niveaux d'inhibition dans le test de superoxyde à l'exception des composés **110h-k** possédant une inhibition très moyenne (41 à 56%). Les résultats des tests antioxydants ($O_2^{\bullet-}$) ont également été représentés dans la figure 39 en faveur de tous les composés testés à la concentration molaire la plus élevée (2mM) et (0.1mM) pour l'acide gallique.

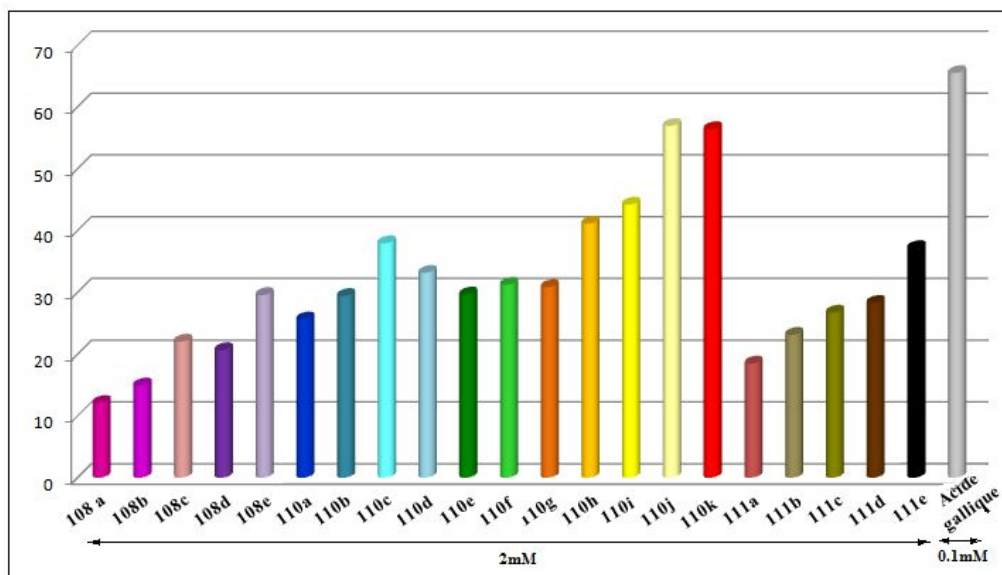


Figure 39 : Représentation graphique du pourcentage d'inhibition des radicaux $O_2^{\bullet-}$ des composés synthétisés à 2 mM et à 0,1 mM pour l'acide gallique standard

II.8.2. Concentration Minimale Inhibitrice IC_{50}

Le paramètre IC_{50} (concentration équivalente à 50% de radicaux perdus) est défini comme étant la concentration du composé capable d'inhiber 50% de l'activité de radicaux libres. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de produit d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical.

Les résultats exprimés en IC_{50} sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration, par interpolation ou extrapolation à 50% d'inhibition. Il faut noter que plus la valeur d' IC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante du produit est grande.

Le tableau 14 et la figure 40 résument les valeurs des concentrations minimales inhibitrice IC_{50} des produits testés contre les radicaux (NO^{\bullet}), étant les plus significatifs **110d**, **108b**, **110c** et

CHAPITRE III / Partie B : Évaluation de l'activité antioxydante des pyrazolopyridinones 110a-k, pyrazolones 111a-c, pyrazolopyrimidinones 111d-e

110e (9.5, 11.22, 11.85 et 12.65 μ M, respectivement), confirmant que **110d** est le meilleur agent antioxydant.

Tableau 14 : Valeur d'IC₅₀ (μ M) des composés testés contre les radicaux (NO[•])

Composés	108a	108b	108c	108d	108e	110a	110b	110c	110d	110e	110f
IC ₅₀ (μ M) (NO [•])	13.65	11.22	32.05	18.91	23.95	68.66	88.2	119.32	72.83	113.8	120.8
Composés	110g	110h	110i	110j	110k	111a	111b	111c	111d	111e	Ac.Ascor
IC ₅₀ (μ M) (NO [•])	47.52	79.02	68.8	50.27	22.35	13.12	14.62	11.85	9.5	12.65	146.3

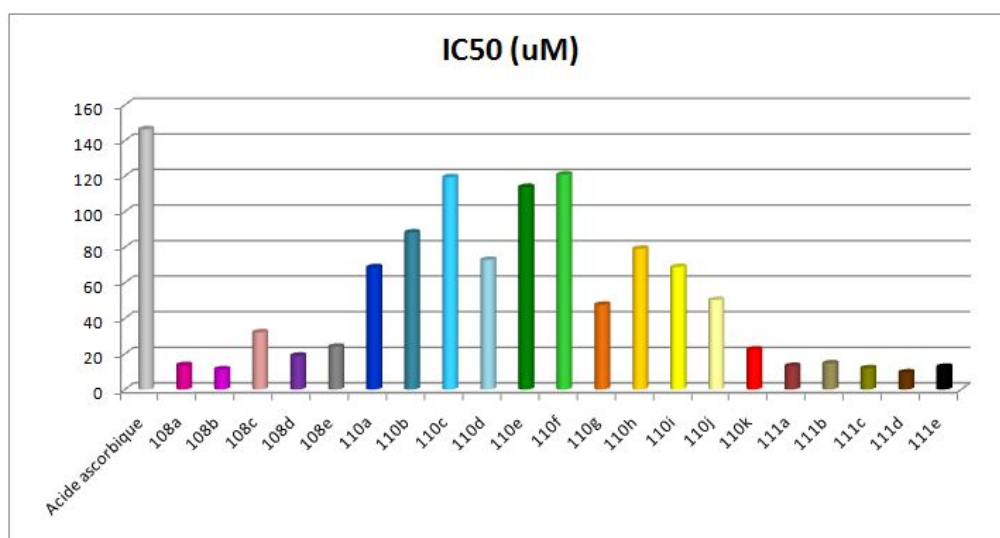


Figure 40 : Représentation graphique des valeurs d'IC₅₀ des composés testés et du standard **Acide ascorbique** pour le test(NO[•])

III. Conclusion

Nous avons réalisé une étude *in vitro* des vingt-six molécules synthétisés afin d'évaluer leur activité antioxydante.

Les tests utilisés (DPPH[•], ABTS^{•+}, NO[•], O₂^{•-}) ont permis d'obtenir un screening préliminaire sur la capacité de ces composés à neutraliser différents types de radicaux.

Compte tenu des résultats, on peut conclure que les composés synthétisés présentent une capacité antioxydante significative et cela est mis en évidence dans les tests NO, ABTS et DPPH.

On observe une tendance à la meilleure activité des composés : **111d**, **108b**, **111c** et **110k** (IC₅₀ de 9,5, 11,225, 11,85 et 22,35 μ M, respectivement), soit 7 à 17 fois plus actif que

CHAPITRE III / Partie B : Évaluation de l'activité antioxydante des pyrazolopyridinones 110a-k, pyrazolones 111a-c, pyrazolopyrimidinones 111d-e

l'ascorbique acide, pour le test NO[•], **108b** et **111b** (IC₅₀ de 6,18 et 54,42 μM) pour ABTS^{•+} et **108d** (IC₅₀ de 14,43 μM) pour DPPH[•].

En effet, les faibles IC₅₀ ont été notées pour :

- les composés **110 e** et **110f** (IC₅₀ de 119,325 et 120,8 μM respectivement) pour le test NO[•],
- le composé **110k** (261,575 μM) pour le test ABTS,
- les composés **111c** et **111d** (IC₅₀ de 298,683 et 318,833 μM, respectivement) pour le test DPPH.

En fin, les composés synthétisés ont montré de faibles niveaux d'inhibition dans le test de superoxyde.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif poursuivi à travers ce travail a été l'élaboration d'un certain nombre de composés hétérocycliques originaux potentiellement bioactifs. Les dérivés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazides **108a-e** et les benzopyran-4-ones **163a-e**, qui constituent la matière de base, ont été aisément obtenus.

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont consisté à élaborer des méthodologies simples et efficaces de préparation et de contrôle de la régiosélectivité.

Les pyrazolopyridinones **110a-k** ont été obtenus avec des rendements bons à excellents par condensation des intermédiaires clés 2-cyano-N'-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl) acétohydrazide substitués **108a-e** avec des dérivés de la 3-formylchromone dans l'acide acétique glacial. Par ailleurs, les deux séries de pyrazolones **111a-c** et pyrazolopyrimidinones **111d-e** ont été obtenues également avec de bons rendements par réaction des intermédiaires **108a-e** en présence de seulement l'acide acétique glacial.

De nouvelles benzophénones **164a-e** substituées aux positions 5 et 5'' ont été obtenues via une addition de Michael du nitrométhane sur les intermédiaires benzopyran-4-ones **163a-e**, synthèse simple et efficace.

La structure des composés synthétisés a été établie par les techniques spectroscopiques: RMN ¹H, RMN ¹³C, RMN 2D (HSQC, HMBC, NOESY) et diffraction aux rayons X (DRX) et leur pureté par la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS).

L'activité anticancéreuse effectuée pour la première fois sur les benzophénones **164a-e**, in vitro, sur les lignées cellulaires du cancer du sein (MDA-MB-231 et T47-D) et la lignée cellulaire du cancer de la prostate (PC3), présentent une activité anticancéreuse pertinente. Le composé **164e** est le plus puissant de toutes les benzophénones testées. Le composé **164e** induit une cytotoxicité sur le cycle cellulaire des lignées cellulaires de cancer du sein et un retard du cycle cellulaire avec une augmentation de la mort cellulaire par effet cytotoxique dans la lignée cellulaire du cancer de la prostate.

Le pouvoir antioxydant des composés synthétisés **108a-e**, **110a-k**, **111a-c** et **111d-e** a été évalué selon quatre techniques de piégeage des radicaux libres, radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), radical acide 2, 2'-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}), radical oxyde nitrique (NO[•]) et radical superoxyde (O₂^{•-}). Les acides ascorbique et gallique ont été utilisés respectivement comme produits de référence pour les tests (DPPH[•], ABTS^{•+} et NO[•]) et (O₂^{•-}). Les résultats obtenus révèlent que tous les composés testés

CONCLUSION GÉNÉRALE

présentaient une capacité antioxydante significative et sont plus particulièrement de bons inhibiteurs du radical NO[•]. Les composés **111d**, **108b** et **110k** se distinguent particulièrement par leurs valeurs d'IC₅₀ très intéressantes (9.5, 11.22 et 22.35 μM, respectivement), soit 7 à 17 fois plus actif que l'ascorbique acide, pour le test NO[•].

Les résultats obtenus ouvrent de larges perspectives qui pourront s'articuler autour de l'évaluation plus approfondie de ces composés synthétisés sur un certain nombre de cibles biologiques, de nouvelles possibilités d'accès à d'autres dérivés homologues pouvant être entreprises (les méthodes que nous avons mises au point peuvent être étendues à d'autres réactifs) et l'exploration de nouvelles stratégies de synthèse permettant l'accès à d'autres systèmes hétérocycliques fonctionnels à visée thérapeutique potentielle (les xantones, les spiro...).