



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
BÉNI MELLAL



N° d'ordre : 71/2015

UFR : Sciences et Génie des Matériaux

THÈSE

Présentée par

Souad MOJAHIDI

Pour obtenir le

DOCTORAT NATIONAL

Spécialité : Chimie Bio-organique et Analytique

**Synthèse et évaluation des propriétés photophysiques
et pharmacologiques de nouveaux systèmes polyaza-
hétérocycliques pyridaziniques et porphyriniques**

Soutenue publiquement le **Vendredi 15 Mai 2015**, devant le jury composé de :

Pr. B. Mernari	Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal	Président
Pr. M. Baltas	Université Paul Sabatier, Toulouse, France	Rapporteur
Pr. S. Radi	Université Mohammed I, Faculté des Sciences, Oujda	Rapporteur
Pr. M. Chigr	Université Sultan Moulay Slimane, FST, Béni-Mellal	Rapporteur
Pr. Maria A. F. Faustino	Université Aveiro, Aveiro, Portugal	Examineur
Pr. Maria G. P. M. S. Neves	Université Aveiro, Aveiro, Portugal	Examineur
Pr. H. B. Lazrek	Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences, Marrakech	Examineur
Pr. E.M. Rakib	Université Sultan Moulay Slimane, FST, Béni-Mellal	Directeur de thèse

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire de Chimie Organique et Analytique de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal sous la direction du professeur El Mostapha RAKIB, en collaboration avec l'équipe de recherche de l'Université Aveiro, Portugal dirigée par professeurs José A. S. Cavaleiro, Maria A. F. Faustino et Maria Graça P. M. S. Neves. Cette collaboration scientifique entre dans le cadre d'un projet de coopération CNRST-Maroc/FCT-Portugal (2011-2014).

Le présent travail a fait l'objet de **quatre publications** et **quatre communications** internationales.

Publications

- 1) **S. Mojahidi**, H. Sekkak, E. M. Rakib, M. G.P.M.S.Neves, M. A.F. Faustino, J. A. S. Cavaleiro, H. Zouihri. Alkylation and 1,3-Dipolar Cycloaddition of 6-Styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one: Synthesis of Novel N-substituted Pyridazinones and Triazolo[4,3-b]pyridazinones. *Journal of Chemistry*, **2013**, Vol. 2013, 1-7
- 2) Nuno M. M. Moura, Maria A. F. Faustino, Maria G. P. M. S. Neves, Augusto C. Tomé, E. M. Rakib, A. Hannioui, **S. Mojahidi**, S. Hackbarth, B. Röder, F. A. Almeida Paz, Artur M. S. Silva, José A. S. Cavaleiro. Novel pyrazoline and pyrazole porphyrin derivatives: synthesis and photophysical properties. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 8181-8193.
- 3) **S. Mojahidi**, E.M. Rakib, H. Sekkak, S. Abouricha, N. Benchat, H. Ait Mousse, A. Ziad. Synthesis and in vitro cytotoxicity of novel pyridazin-4-one derivatives. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2010**, 343, 310–313
- 4) H. Sekkak, **S. Mojahidi**, E. M. Rakib, S. Abouricha, A. Kerbal, M. Viale. Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Spirothiadiazolopyridazine Derivatives. *Letters in Drug Design & Discovery*, **2010**, 7 (10), 743-746.

Communications:

- 1) **S. Mojahidi**, E. M. Rakib, H. Sekkak, M. Alaoui, H. Ait Mousse, A. Ziad. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Novel 1-(Aryl Substituted)-4-Oxo-6-Methyl Pyridazine-3-Carboxylic Acids. **Communication-Poster** au 1^{ère} Edition Internationale de Chimie Médicinale au Maroc, **24-25 Mai 2012**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.
- 2) **S. Mojahidi**, H. Sekkak, E. M. Rakib, C. Aiello, M. Viale. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of New Pyridazine Derivatives. **Communication-ORALE** au Symposium International sur la Chimie Hétérocyclique, **26-29 Octobre 2011**, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, Maroc.

3) S. Mojahidi, E. M. Rakib, H. Sekkak, J. A. S. Cavaleiro, M. G.P.M.S.Neves, M. A.F. Faustino. Synthesis of Novel N- Substituted pyridazinones and Triazolopyridazinone Derivatives. **Communication-Poster** au Symposium International sur la Chimie Hétérocyclique, **26-29** Octobre **2011**, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, Maroc.

4) S. Mojahidi, E. M. Rakib, H. Sekkak, M. A. Alaoui, S. Abouricha, N. Benchat. Synthesis and *in Vitro* Cytotoxic Evaluation of Novel Pyridazin-4-one Derivatives. **Communication-Poster** au 4^{ème} Rencontre International de Chimie et Développement, Université Cadi ayyad, Marrakech, Maroc, **24-27** Novembre **2010**.

REMERCIEMENTS

Par ces quelques lignes, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse, en espérant n'avoir oublié personne...

Tout d'abord, je tiens à remercier spécialement mon directeur de thèse Professeur Monsieur El Mostapha Rakib. Les mots me manquent pour exprimer ma profonde gratitude, je le remercie pour m'avoir cru en mes capacités, pour le temps et la patience qu'il m'a accordés tout au long de ces années en me fournissant d'excellentes conditions de recherche. Je le remercie très sincèrement pour sa disponibilité malgré ses nombreuses charges, ses nombreuses aides et ses précieux conseils, ses encouragements, sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont servi de guide lors de la réalisation de ce travail, resteront pour moi un exemple. Je garderai dans mon cœur votre générosité, votre compréhension et votre efficacité. Pour tout ce que vous m'avez donné.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur J. A. S. Cavaleiro, Professeur à l'Université d'Aveiro, Portugal pour m'avoir accueilli dans son groupe de recherche et de me donner la possibilité de découvrir la chimie de la porphyrine (les couleurs de la vie). Je le remercie pour ses encouragements et ses qualités humaines. J'ai beaucoup apprécié sa grande disponibilité et son aide.

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer mes vifs remerciements aux Professeurs Maria do Amparo Ferreira Faustino et Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves de l'Université Aveiro, Aveiro, Portugal, pour m'avoir bien assuré la direction de mes travaux de stage de recherche dans de très bonne conditions. Merci pour votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils. J'ai beaucoup apprécié travailler à vos côtés tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. Je garde toujours beaucoup de plaisir à discuter avec vous et à bénéficier de vos conseils.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont au Professeur Bouchaib Mernari, Président de l'Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal, pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Je voudrais le remercier aussi pour leur soutien de la recherche scientifique à l'université. Que vous soyez assuré de mon entière reconnaissance.

Je remercie Professeur Michel Baltas, de l'Université Paul Sabatier, Toulouse, France, Professeur Smaail Radi, de l'Université Mohammed I, Faculté des Sciences, Oujda et

Professeur Mohamed Chigr de l'Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal d'avoir accepté de rapporter cette thèse. Je vous remercie tous pour votre lecture critique de ce document, vos remarques pertinentes et vos conseils précieux m'ont aidé à améliorer la qualité de ce travail. Soyez assurés, chers professeurs, de mon estime et de ma profonde gratitude.

Merci également à Monsieur Hassan Bihi Lazrek Professeur à l'Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences, Marrakech, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail de thèse et de participer au jury.

Mes remerciements vont également s'adresser au Professeur A. Zyad responsable de Laboratoire d'Immunologie Biochimie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences et Techniques, pour la réalisation des tests biologiques sur nos molécules.

J'adresse ma gratitude à Madame Beate Röder Professeur à l'Université de Berlin, Allemagne pour les analyses photophysiques.

J'adresse mes remerciements au professeur A. Zeghal Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, au Professeur K. Habbari Vice Doyen chargé de la recherche scientifique et au Professeur A. Sajieddine responsable de l'UFR-Science et Génie des Matériaux à la FST de Béni Mellal, pour leur collaboration au bon déroulement de la procédure administrative aboutissant à la soutenance de ma thèse.

Je tiens également à exprimer tous mes sincères remerciements à Monsieur A. Medaghri-Alaoui, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal pour son soutien, ses encouragements et ses précieux conseils.

Mes remerciements vont également aux Professeurs du LCOA en particulier Pr. A. Hannioui, Pr. M. Khouili et Pr. A. Hafid. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Je tiens à remercier M^{lle} L. Bouissane Professeur à la Faculté Polydisciplinaire de Béni-Mellal pour ces précieuses corrections apportées à ce mémoire.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur S. Abouricha Professeur à la Faculté Polydisciplinaire de Béni-Mellal pour son soutien et aide.

Je tiens à remercier le Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique pour l'octroi d'une bourse d'excellence qui m'a permis de mener à bien mes travaux de recherche dans des conditions très satisfaisantes. Ainsi pour le financement de projet de recherche en collaboration avec laboratoire de chimie organique de l'Université Aveiro, Aveiro, Portugal (Projet FCT-Portugal/CNRST-Maroc 2011-2014).

Mes remerciements sont adressés aux membres de la division UATRS du Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique Rabat, pour la réalisation des analyses spectroscopiques RMN, DRX-Monocristal, IR.

Merci à toutes les personnes du département de chimie de l'Université Aveiro qui m'ont aidées a réalisé mon stage de recherche dans meilleurs conditions, en particulier mes collègues N. M. M. Moura, José Menezes et Anna qui ont su apporter une ambiance sympathique et m'encourager. Je les remercie pour leurs précieuses aides. Je garde d'excellents souvenirs durant les quelques mois passés avec vous !

Bien que la thèse soit un travail individuel, elle n'aurait pu être menée à bien sans une équipe qui contribue au bon fonctionnement du laboratoire, je remercie tous mes collègues et mes amies : A. Latifa, A. Najat, O. Bassou, S. Hanan, C. Hakima, A. Ouafae, H. Salha, A. Fatiha, A. Rahhal, Mohamed, Aleen, Hind, Fatima...pour leur aimable sympathie et leur soutien. Mes meilleurs souhaits pour la suite de leur carrière.

Un vif remerciement est dû aussi aux membres du Laboratoire d'Analyse Médicale, Centre Hospitalier Régional, Béni Mellal qu'ils ne cessent d'exprimer leur bonheur de voir ce travail de thèse arrive à son terme.

Tous mes plus grands remerciements et ma profonde reconnaissance vont à ma très chère famille pour leur soutien inconditionnel, et pour leurs encouragements quotidiens.

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

A	Ar	: Aromatique	
	AcOH	: Acide acétique	
	TFA	: Acide trifluoroacétique	
B	BOC	: tert-butyloxycarbonyle	
	Bn	: Benzyle	
	Bmim	: 1-butyl-3-methylimidazolium Bromide	
C	CCM	: Chromatographie sur couche mince	
	CDCl ₃	: Chloroforme deutérié	
	Δ	: Chauffage	
	CIS	: Conversion inter-système	
D	δ	: Déplacement chimique	
	DMF	: Diméthylformamide	
	DDQ	: 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone	
	DMSO	: Diméthylsulfoxyde	
	DMSO-d ₆	: Diméthylsulfoxyde deutérié	
	d	: Doublet	
	dd	: Doublet de doublet	
	DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium	
	DMLA	: Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age	
E	Et	: Ethyle	
	ESI	: Electro-Spray Ionisation	
	ε	: Coefficient d'absorption molaire	
G	g	: Gramme	
H	h	: Heure	
	Hz	: Hertz	
I	IR	: Infra-rouge	
	IC ₅₀	: Concentration inhibitrice de 50 % de la prolifération	
	IC ₃₀	: Concentration inhibitrice de 30 % de la prolifération	
J	J	: Constante de couplage	
L	λ	: Longueur d'onde	
M	Me	: Méthyle	
	MS	: Spectroscopie de masse	
	m	: Multiplet	
	mg	: Milligramme	
	min	: Minute	
	mmol	: Millimole	
	ml	: Millilitre	
	m/z	: Rapport masse sur charge	
	MM	: Masse molaire	
	MALDI	: Désorption-ionisation laser assisté par matrice	
	MTT	: 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tetrazolium bromide	
	N	nm	: Nanomètre

O	ORTEP	: Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot	
P	PF	: Point de fusion	
	Ph	: Phényle	
	PBS	: Posphate Buffer Salin	
	ppm	: Partie par million	
	PDT	: Photothérapie dynamique	
	PS	: Photosensibilisateur	
	Q	q	: quadruplet
R	Rdt	: Rendement	
	Rx	: Rayons X	
	RMN ¹ H	: Résonance Magnétique Nucléaire du proton	
	RMN ¹³ C	: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone	
	$\Phi\Delta$: Rendement quantique en oxygène singulet	
	S	s	: Singulet
T	t-BuOK	: Tertiobutylate de potassium	
	THF	: Tétrahydrofurane	
	TMS	: Tetraméthylsilane	
	TA	: Température ambiante	
	t	: Triplet	
	TOF	: Temps de vol	
	TPFPP	: <i>méso</i> -tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrine	
	TPP	: <i>méso</i> -tetraphenylporphyrin	
	U	UV	: Ultraviolet
		UV-Vis	: Ultraviolet-Visible

Sommaire

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I: Synthèse, réactivité et évaluation biologique de nouveaux dérivés de la pyridazinone	6
---	----------

I- Rappel bibliographique	7
II- Condensation de 2-pyrone avec les dérivés de l'aniline	16
II-1- Réactivité de la 2-pyrone vis-à-vis des amines hétérocycliques	16
II-2- Synthèse des acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique	21
III- Etude de la réactivité des 4-pyridazinones.....	26
IV- Synthèse et réactivité de nouveaux dérivés pyridazine-3(2H)-one.....	28
IV-1- Synthèse des 6-aryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-ones	28
IV-2- Alkylation de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one	31
V- Activité anticancéreuse	33
VI- Conclusion	36
VII- Partie expérimentale.....	37

Chapitre II : Cycloaddition dipolaire-1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one avec N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimine.....	50
---	-----------

I- Généralités sur les dipôles 1,3	51
I-1- Les Nitrilimines (N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines).....	52
II- Elaboration des dipôles-1,3	59
II-1- Synthèse des précurseurs N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines	59
III- Cycloaddition dipolaire 1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one	64
IV- Conclusion	67
V- Conclusion de la première partie.....	68
VI- Partie expérimentale	69

Chapitre III : Cycloaddition dipolaire 1,3 des porphyrines : Synthèse de nouvelles pyrazolin- et pyrazoloporphyrines en vue de leur application en photothérapie dynamique 77

I- Le Cancer	79
I-1- Problématiques.....	79
I-2- Méthodes utilisés pour le traitement du cancer	80
II- Les porphyrines et photothérapie dynamique (PDT).....	84
II-1- Photothérapie dynamique	84
II-1-1- Mécanismes.....	84
II-1-2- Les processus photochimiques	84
II-2- Les photosensibilisateurs en thérapie photodynamique	87
II-2-1- Le photosensibilisateur idéal	87
II-2-2- Les photosensibilisateurs de première génération.....	88
II-2-3- Les photosensibilisateurs de deuxième génération	89
II-2-4- Les photosensibilisateurs de troisième génération	92
III- Généralités sur les porphyrines	93
III-1- Structure	93
III-2- Méthode de synthèse des <i>méso</i> -porphyrines	95
III-3- Caractérisation des porphyrines	97
III-3-1- Spectroscopie UV-visible	97
III-3-2- Spectroscopie RMN du proton.....	98
III-3-3- Spectroscopie de Masse	100
IV- Etude de la réactivité des porphyrines vis-à-vis de différents dipôles.....	100
V- Cycloaddition des N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines avec d'autres dérivés de la porphyrine.....	109
V-1- Elaboration des dipôles : N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines.	109
V-2- Synthèse des dipolarophiles dérivés de la porphyrine	110
V-3- Etude de l'addition des dipôles 45a-f sur les porphyrines 49a-d	111
V-4- Etude de l'addition des N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines sur la méso-tétrakis (pentafluorophényl)porphyrine (F19TPP) monopropargylé 50.....	118
VI- Etude photophysique.....	122
VII- Activité cytotoxique	127

Test de cytotoxicité	127
Evaluation de l'activité cytotoxique : Test MTT	127
VIII- Conclusion	129
IX- Partie expérimentale	130
Conclusion générale	164
Résumé	168

Introduction générale

Les composés hétérocycliques représentent la majorité des molécules utilisées dans l'industrie pharmaceutique et font l'objet d'une recherche très active dans le monde. Leur rôle dans les processus biologiques est de première importance et sont aussi des structures de base d'une grande variété des médicaments. Les travaux de recherche de la chimie hétérocyclique publiés dans des revus internationaux tels que les journaux bio-organique, biophysique, pharmaceutique, médicinal et autres constituent approximativement deux tiers de la littérature de chimie organique.

Les pyridazinones et les porphyrines font partie des hétérocycles les plus utilisés, du fait de leurs caractéristiques structurales et de leurs activités biologiques diverses comme antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antitumoraux, etc....

A titre d'exemple, dans la figure I nous présentons les principaux dérivés de la pyridazinone apparus sur le marché pharmaceutique et testés dans les essais cliniques ou agrochimiques.

Les dérivés de pyridazinone utilisés comme médicaments sont principalement :

- Les anti-hypertensives et/ou cardiotoniques : Indolidan [1], Bemoradan [2], Primobendan [3], Levosimendan [4], Azanrinone [5]
- Un antidépresseur : Minaprine [6]
- Un anti-inflammatoire : Emorfazone [7]
- Un antiallergique et antiasthmatique : Azélastine [8]

[1] K. Abouzid, M. A. Hakeem, O. Khalil, Y. Maklad. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 382.

[2] D.W. Combs, M. S. Rampulla, S. C. Bell, D. H. Klaubert, A. J. Tobia, R. Falotico, B. Haertlein, C. L. Weiss, J. B. Moore. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 380.

[3] D. W. Robertson, J. D. Leander, R. Lawson, E. E. Beedle, C. R. Clark, B. D. Potts, C. J. Parli. *J Med Chem.* **1987**, 30, 1742.

[4] S. Archan, W. Toller. *Curr. Opin. Anesthesiol*, **2008**, 21, 78.

[5] A. A. Siddiqui, S. M. Wani. *J. Heterocycl. Chem.*, **2004**, 13 115-118.

[6] E. Sotelo, A. Coelho, E. Ravina. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 4459.

[7] A. A. Siddiqui, R. A. Syed, S. M. Mohammed, A. H. Syed, R. Mohammed, K. Ravindra. *Acta Poloniae Pharmaceutica.*, **2008**, 65, 223.

[8] L. Phillip, M. D. Lieberman, A. Russell, M. D. Settipane, *Allergy and Asthma Proc.*, **2003**, 24, 95-105.

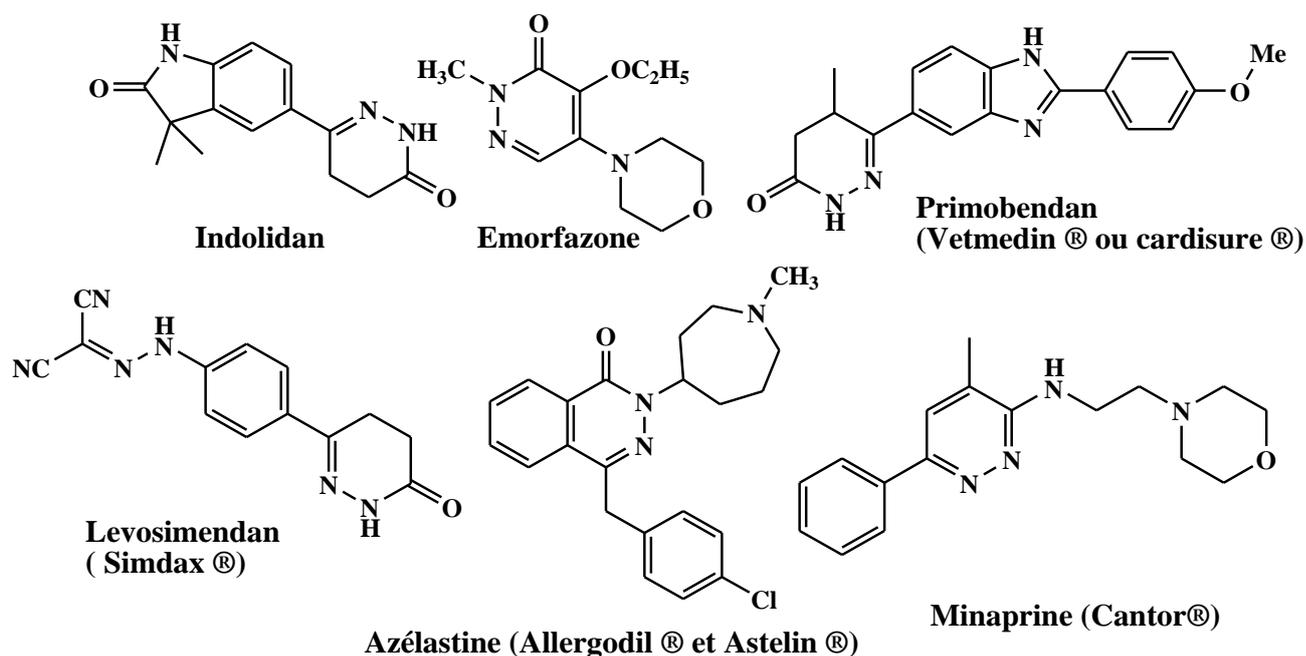


Figure 1 : Exemple de dérivés de la pyridazinone apparus dans le marché pharmaceutique.

Dans la série des porphyrines certains dérivés ont reçu l'autorisation de mise sur le marché des médicaments comme :

Le **Photofrin®** (mélange de porphyrines naturelles) utilisé en photothérapie dynamique pour le traitement de certains cancers.

Le **Foscan®** (La *méso*-tétrakis(*m*-hydroxyphényl)chlorine (*m*-THPC), indiqué pour le traitement des cancers du cou et de la tête, il a reçu l'autorisation d'être commercialisé sur le marché des médicaments dans plusieurs pays en 2002.

Le **Verteporfin** un dérivé de type benzoporphyrine mono-acide (BDP-MA), utilisé pour le traitement de la DMLA (dégénérescence maculaire), il est commercialisé en 2000 sous le nom de **Visudyne®**.

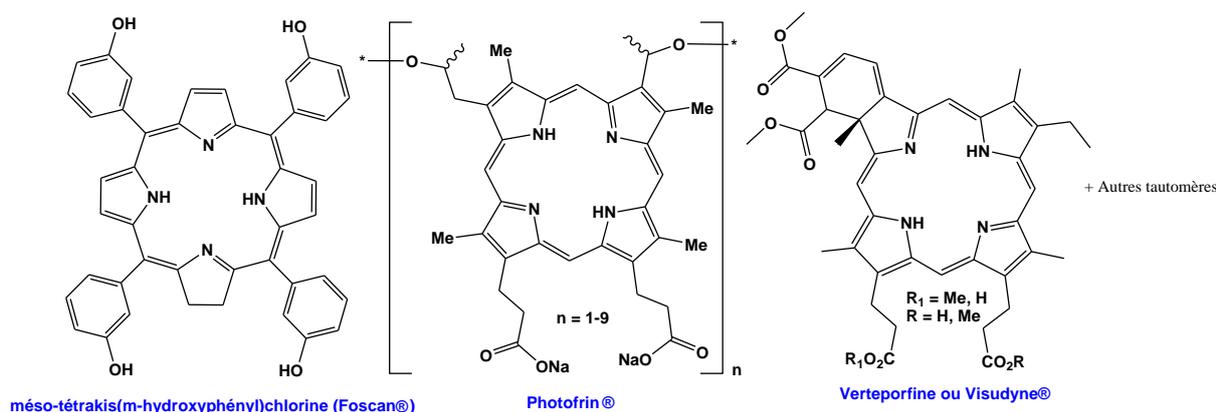


Figure 2 : Exemple de dérivés de la porphyrine apparus dans le marché pharmaceutique.

Vu la richesse de la chimie des pyridazinones et des porphyrines, et la diversité de leurs applications biologiques, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à développer la synthèse et l'évaluation pharmacologique de nouvelles séries de pyridazinones et porphyrines. Ce travail de notre mémoire se répartit, ainsi, en trois chapitres :

Dans le premier chapitre, nous présenterons brièvement un aperçu bibliographique sur la synthèse des dérivés de pyridazinone, ainsi que leur réactivité chimique. Nous développerons dans la deuxième partie de ce chapitre, la synthèse de nouveaux dérivés de la pyridazinone soit par condensation de la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone avec l'aniline substituée, soit par condensation multi-composé de trois réactifs : l'acide lévulinique, l'aldéhyde aromatique et l'hydrazine. Des tests anticancéreux seront effectués *in vitro* sur quelques molécules de la pyridazinone pour évaluer leurs effets cytotoxiques contre la lignée cellulaire P815.

Dans le deuxième chapitre, nous donnerons un aperçu bibliographique sur la synthèse des cycloadduits issus des réactions de cycloaddition de *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines avec différents sites dipolarophiles, puis nous examinerons la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis des *N*-Aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Nous étudierons éventuellement la péri et la régiosélectivité de la réaction.

Le dernier chapitre fera l'objet de la synthèse de nouvelles cycloadduits dérivés de la porphyrine issus de l'addition des *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines sur des sites dipolarophiles de la porphyrine, en vue de leur application en photothérapie dynamique pour le traitement du cancer. Nous présenterons au début une revue de la littérature illustrant les problématiques du cancer, les principales thérapies utilisés actuellement et quelques aspects sur la chimie des porphyrines suivie d'une étude bibliographique sur les réactions de cycloaddition dipolaire 1,3 réalisés sur les porphyrines. Dans la deuxième partie, nous étudierons la réactivité des vinylporphyrine et propargylporphyrine vis-à-vis des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Afin de déduire la faisabilité d'une application potentielle dans la thérapie photodynamique (PDT) des cycloadduits synthétisés, plusieurs paramètres photophysiques seront étudiés, à savoir, le rendement quantique de fluorescence, et le rendement quantique de l'oxygène singulet.

Chapitre I :
**Synthèse, réactivité et évaluation biologique de
nouveaux dérivés de la pyridazinone**

I- Rappel bibliographique

Comme nous l'avons signalé dans l'introduction, les pyridazinones diversement substitués ont montré des activités biologiques diverses. La modification structurale sur les différentes positions de la molécule de base, permet d'améliorer son profil pharmacologique et conduire à l'obtention des molécules biologiquement actives. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour la synthèse et l'étude de la réactivité des dérivés de la pyridazinone. La plupart de ces méthodes sont basées essentiellement sur l'utilisation de l'hydrazine ou ses dérivés comme précurseurs de cyclisation avec les réactifs présentant deux sites électrophiles en position 1,4. Nous rapportons ci-dessous un certain nombre de travaux de recherche décrivant la synthèse et la réactivité des dérivés de la pyridazinone.

Abouzid et coll. [1] ont synthétisé deux nouvelles séries de pyridazinone en introduisant un groupe aryle lié à la pyridazinone dans la position 6 par une chaîne éthénylique ou éthylique (Schéma 1). Ils ont montré que ces composés présentent une activité anti-inflammatoire très intéressante. Les résultats de criblage biologique ont révélé que deux composés présentent l'activité la plus élevée dans cette série avec une affinité de liaison très importante pour le site actif de la COX-2.

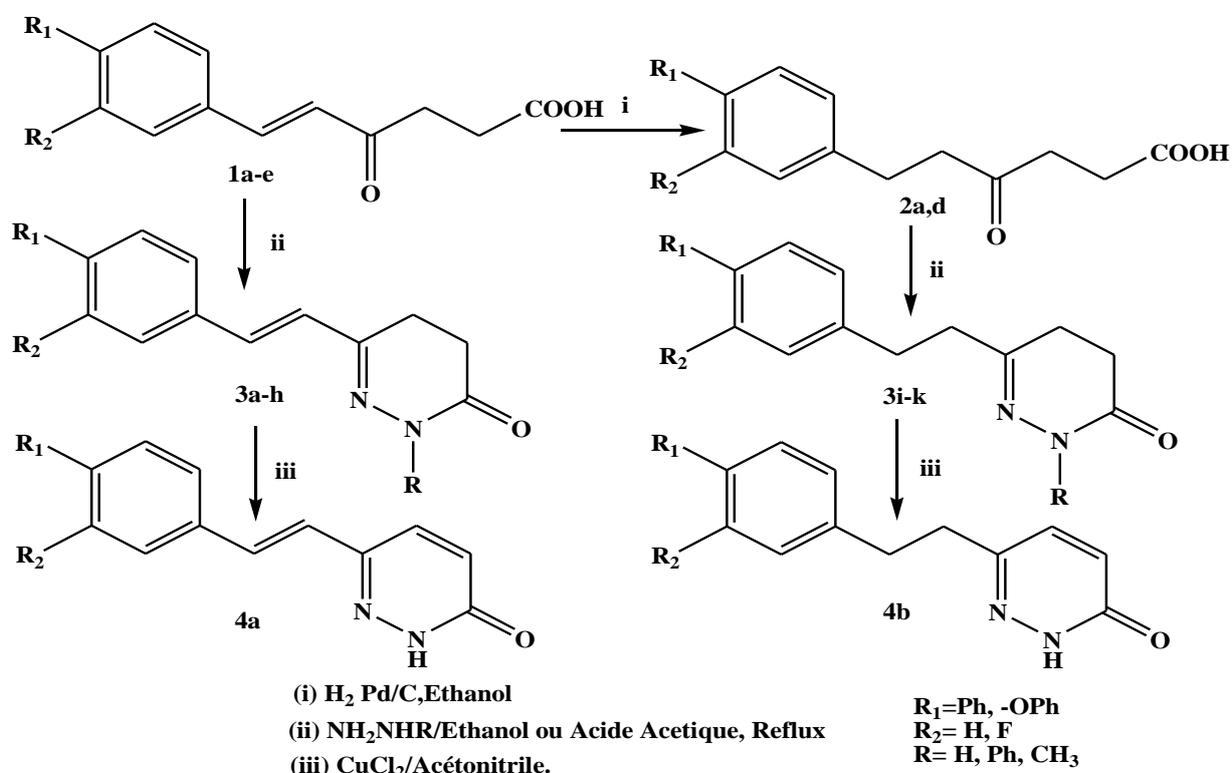


Schéma 1

[1] K. Abouzid, S. A. Bekhit, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 5547.

En 2008, Alex et coll. [2] ont développé en deux étapes la synthèse de nouveaux dérivés de la pyridazinone : la première consiste à synthétiser l'aryldrazone **7** à partir de la réaction de condensation de l'aryldrazine **5** avec l'acide-pent-4-ynoïque **6** dans le THF en présence d'un catalyseur de Lewis. La deuxième étape permet d'obtenir l'arylpyridazinone **8** avec un excellent rendement via une cyclisation intramoléculaire par une simple déshydratation de l'aryldrazone **7** (Schéma 2).

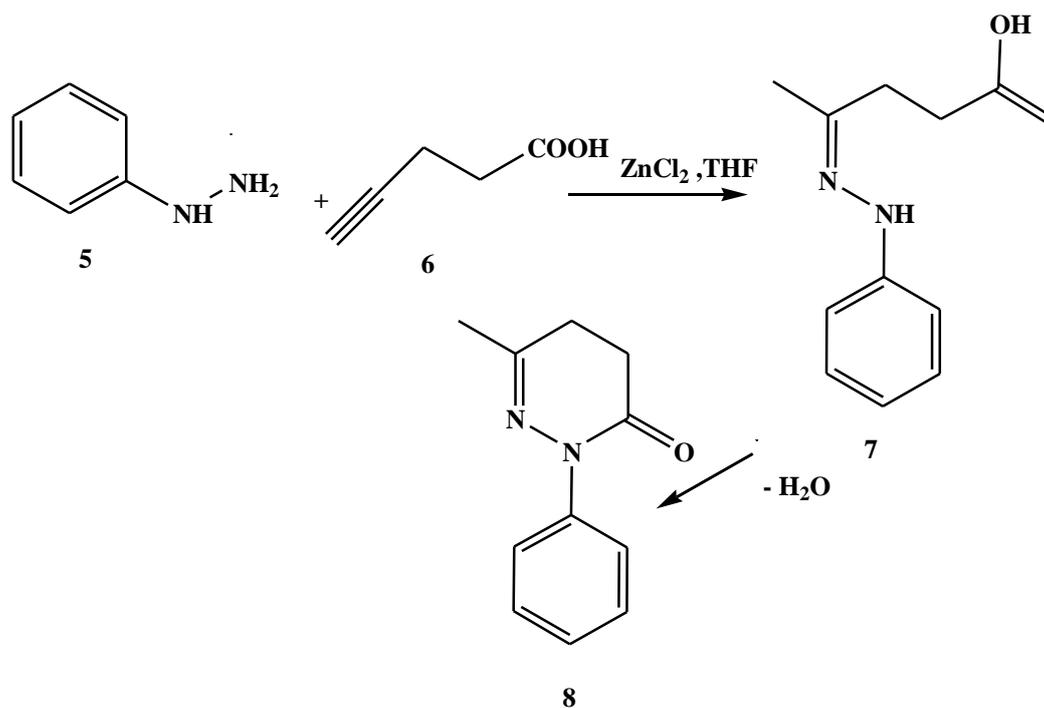


Schéma 2

En 2006, Liang Xin et coll. [3] ont développé une méthode de synthèse de la 4,5-dichloro-3(2H) pyridazinone **10** basée sur la réaction de condensation de la 3,4-dichloro-5-hydroxyfuran-2-one **9** avec l'hydrazine hydratée à reflux de l'éthanol (Schéma 3).

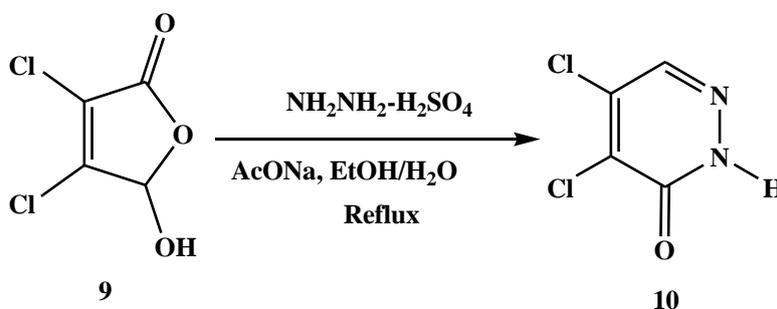


Schéma 3

[2]. K. Alex, A. Tillack, N. Schwarz, M. Beller, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4607-4609.

[3]. C. Ma, S-J. Liu, L. Xin, J. R. Falck, D-S. Shin, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 9003.

La réaction de l'acide 4-(4-aminophényl)-4-oxobutanoïque **11** avec l'hydrazine différemment substituées à reflux de l'éthanol conduit aux dérivés de la pyridazinone avec de bons rendements (Schéma 4). Les auteurs [4] ont montré que ce type de composés est doué d'activités anti-hypertensives intéressantes.

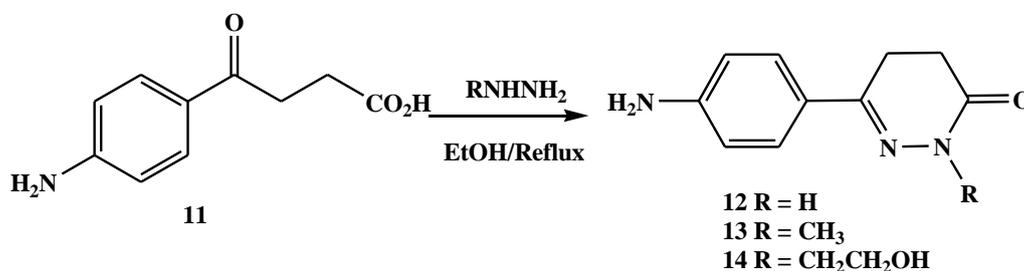


Schéma 4

Dans une étude récente, Tiryaki et coll. [5] ont développé la synthèse d'une nouvelle série de pyridazinone **17** à partir de la réaction de l'acide glyoxilique **16**, l'acétophénone **15** et l'hydrazine. L'alkylation de la pyridazinone **17** par le bromochloroéthane suivie du coulage par l'arylpépirazine a conduit aux 2-[2-(arylpépirazin-1-yl)éthyl]-6-phénylpyridazin-3(2H)-ones **18** qui ont montré des activités anti-inflammatoire et analgésique in vivo intéressantes (Schéma 5).

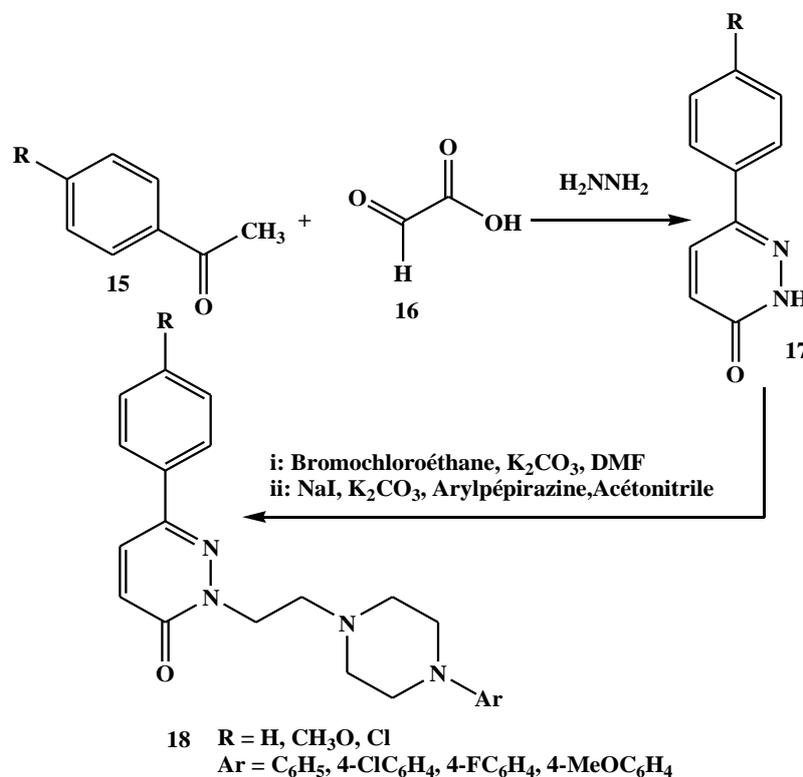


Schéma 5

[4]. S. Demirayak, A. C. Karaburun, R. Beis. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 1089.

[5]. D. Tiryaki, M. Sukuroglu, D. S. D. Esra Akkol, S. Ozgen, M. F. Sahin. *Med. Chem. Res.* **2013**, 22, 2553.

R.S. Reddy et coll. [6] ont synthétisé le 6-alkyl-4,5-dihydro-3(2H) pyridazinone **20** à partir de condensation des dérivés de butyrolactone **19** avec l'hydrazine monohydraté a reflux d'éthanol pendant deux heures (Schéma 6).

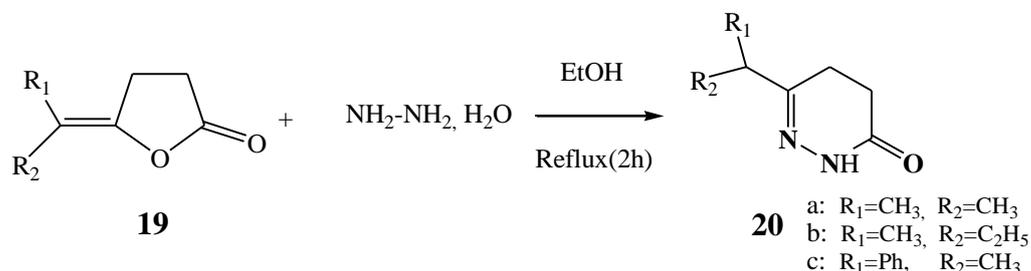


Schéma 6

D'autres dérivés de la pyridazinone **22** [7] ont été synthétisés à partir de la réaction de 5-(2-aryl-2-oxo-éthan-1-yl)-5-R Meldrum's acide **21** avec l'hydrazine dans DMF à température ambiante (Schéma 7). Cette méthode simple a permis d'obtenir les pyridazinones avec de bons rendements.

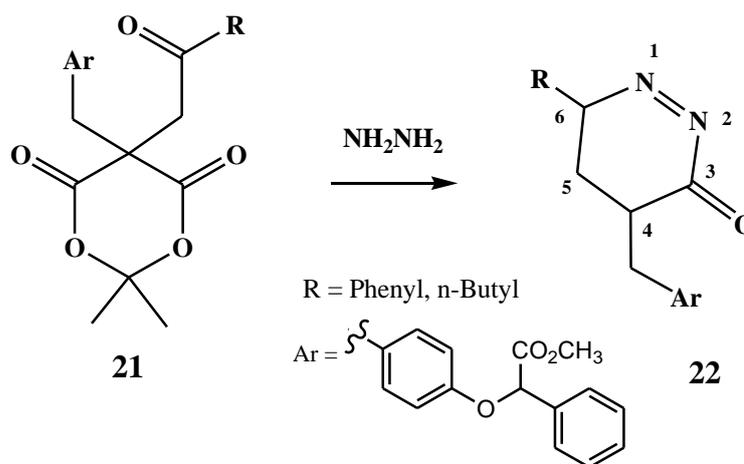


Schéma 7

Afin d'étudier la relation structure-activité biologique des dérivés de la pyridazinone, Husain et coll. [8] ont développé une stratégie de synthèse pour accéder aux dérivés escomptés selon la méthode décrite dans le Schéma 8. Cette dernière consiste à préparer premièrement les dérivés de furanone **26** puis les faire réagir avec l'hydrazine hydratée dans le n-propanol pour aboutir à des pyridazinones disubstituées en position 4 et 6 par des groupements aromatiques **27**.

[6]. R. S. Reddy, K. Saravanan, P. Kumar, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 6558.

[7]. a) G. Toth, S. Molnár, T. Tamás, I. Borbély. *Synth. Commun.* **1997**, 27, 3513.

b) A.Patricio_Maximiano, Universidade Federal de Santa Catarina, Brésil, **2010**, 16-38.

[8]. A. Husain, A. Ahmad, A. Bhandari, V. Ram, *J. Chil. Chem. Soc.*, **2011**, 56, 778.

Ils ont évalué l'activité biologique des produits synthétisés contre la souche mycobactérie de tuberculose H37Rv. Parmi ces produits, le 5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzyl)-3-(4-chlorophényl)-1,6-dihydro-6-pyridazinone qui présente une bonne activité antituberculeuse. Cette étude a montré le potentiel antituberculeux des pyridazinones.

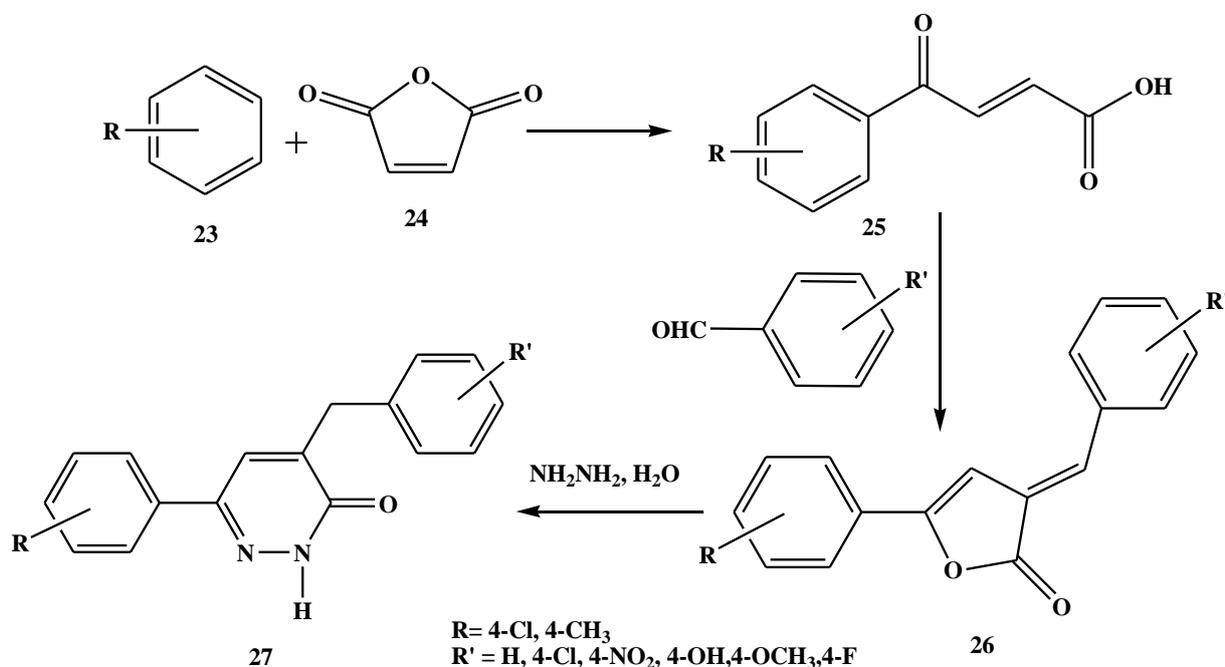


Schéma 8

Dans une étude récente [9], l'acide 4-oxo-4-arylbutoïque **25** a été utilisé comme précurseur de départ pour la synthèse en deux étapes des dérivés *N*-alkylés de la pyridazinone **29** et qui ont montré des activités anti-hypertensives importantes (Schéma 9).

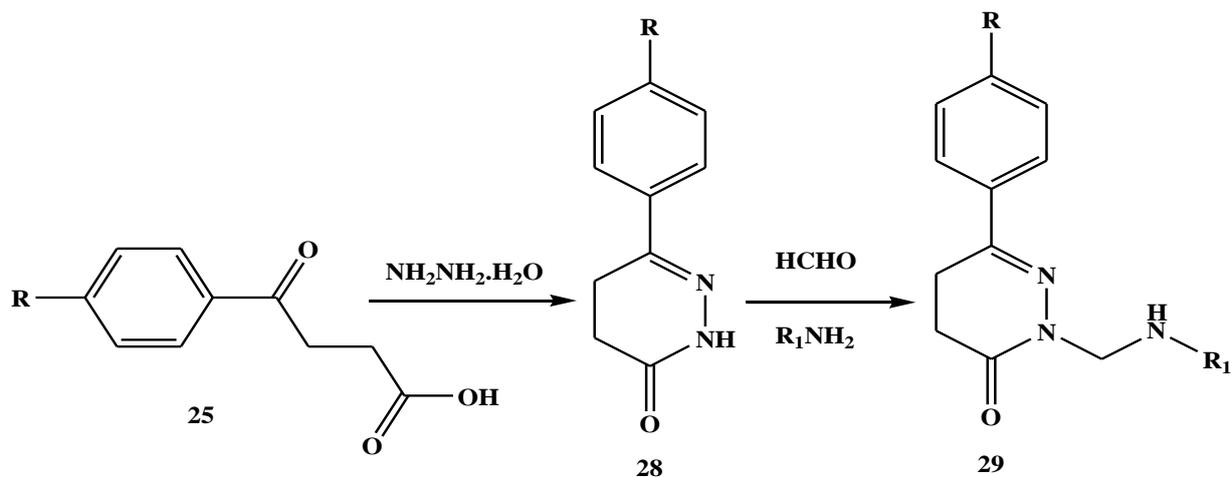


Schéma 9

[9]. A. A. Siddiqui, R. Mishra, M. shaharyar, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, 45, 2383.

Kuang [10] a décrit récemment une nouvelle série de pyridazinones substitués en différents positions **34** selon la stratégie de synthèse mentionnée dans le Schéma 10 et qui ont montré des activités antifongiques in vivo très intéressantes.

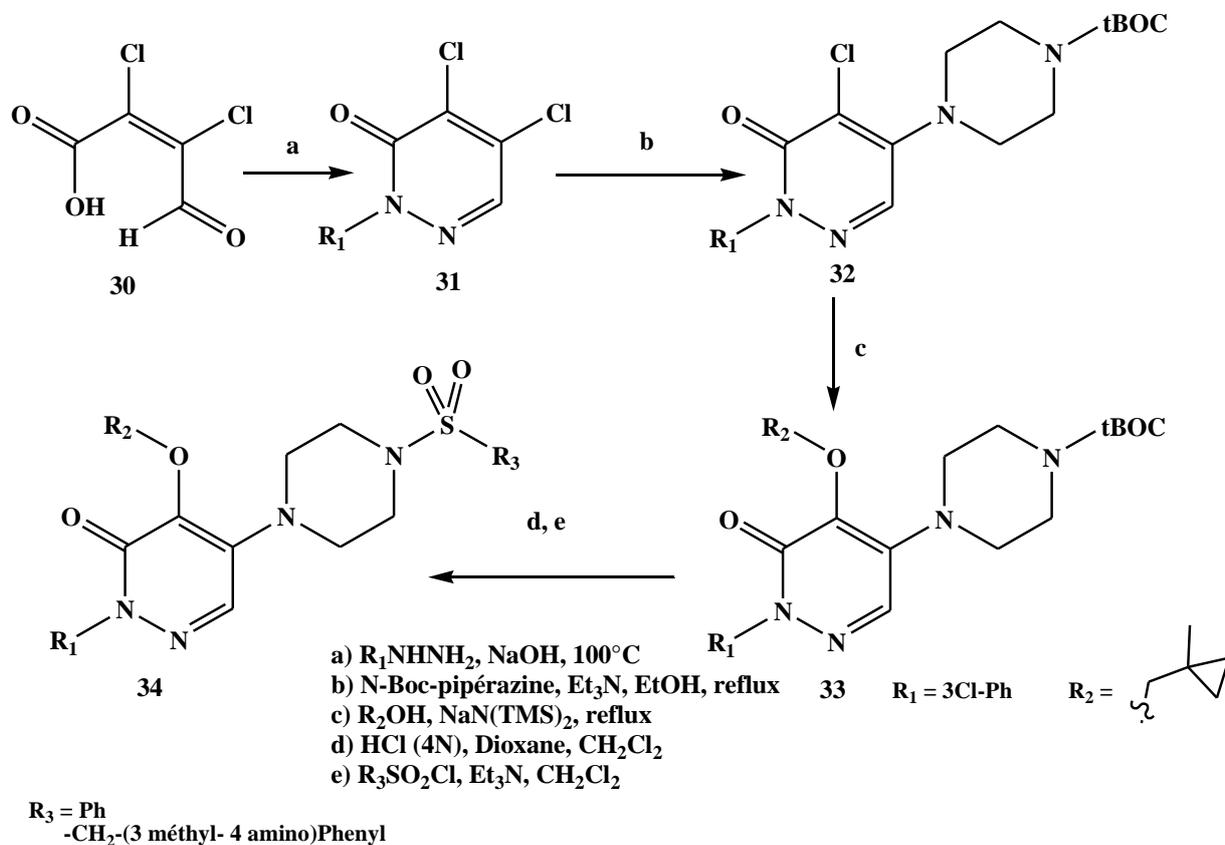


Schéma 10

Dans la série des pyridazinones condensés avec des hétérocycles à cinq chaînons, Piaz et coll. [11] ont préparé une nouvelle série des isoxazolo[3,4-d]pyridazinones en adoptant la séquence réactionnelle suivante (Schéma 11): La condensation de l'éthyl chloro oximidoacétate **35** avec différents réactifs difonctionnels 1,3 conduit aux isoxazoles **36**, qui réagissent par la suite avec l'hydrazine pour donner les isoxazolo[3,4-d]pyridazinones **37**. La présence des dérivés isoxazolopyridazinones dans certains produits a montré une activité inhibitrice de phosphodiesterase (PDE) intéressante.

[10]. R. Kuang, H. Wu, P. C. Ting, R. G. Aslanian, J. Cao, D. W. Kim, J. F. Lee, J. Schwerdt, G. Zhou, R. J. Herr, A. J. Zych, J. Yang, S. Q. Lam, D. M. Jenkins, S. A. Sakwa, S. Wainhaus, T. A. Black, A. Cacciapuoti, P. M. McNicholas, Y. Xu, S. S. Walker. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 5268.

[11]. V. Dal Piaz, A. Rascón, M. E. Dubra, M. P. Giovannoni, C. Vergelli, M. C. Castellana, *Il Farmaco.*, **2002**, 57, 89.

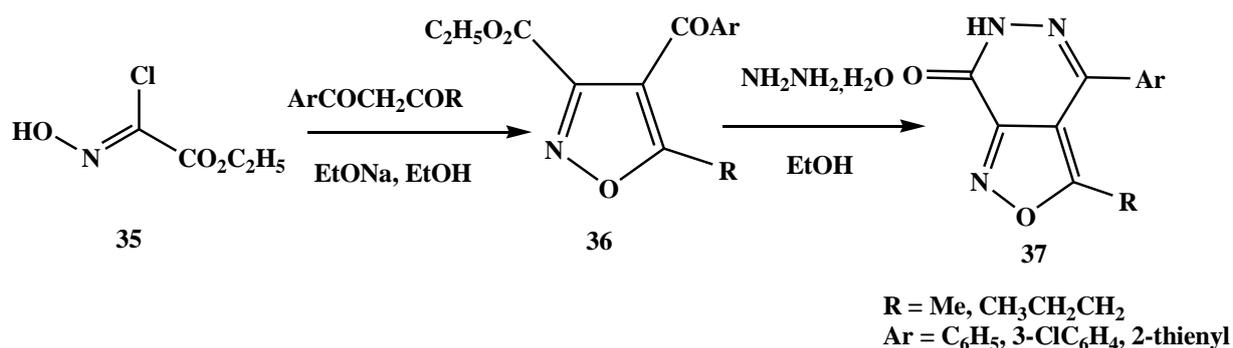


Schéma 11

Un autre dérivé de pyridazinone **39** condensé avec un hétérocycle à cinq chaînons a été synthétisé par Feixas et Giovannoni [12] en condensant l'hydrazine avec l'éthyl 4-acétyl-5-méthylisoxasole-3-carboxylate **38** à reflux de l'éthanol (Schéma 12).

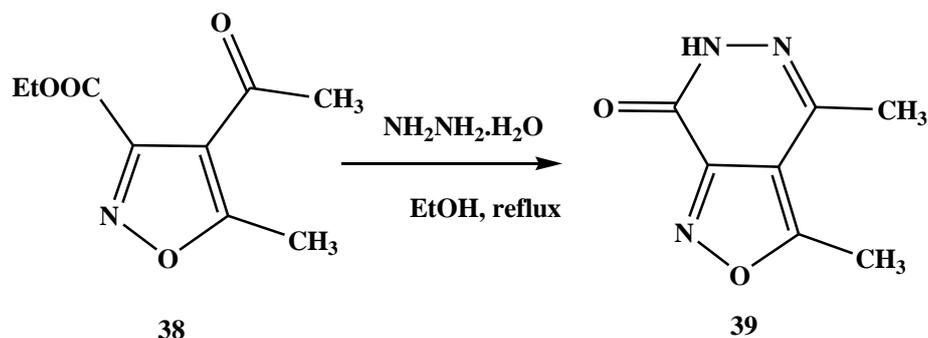


Schéma 12

En 2007, Anwar et coll. [13] ont décrit la synthèse des pyridazino[1,6-*a*]quinazolines **41** à partir de la condensation des 2-oxobutanal-1-arylhyazones **40** avec le benzylidène malononitrile et l'éthyl arylidencyanoacétate (Schéma 13).

[12]. J. Feixas, M. P. Giovannaoni, C. Vergelli, A. Gavalà, N.Cesari, A. Graziano, V.D. Piaz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**,15, 2381.

[13]. S. I. Aziz, H. F. Anwar, M. A. El-Asapery, M. H. Elnagdi. *J. Heterocyclic Chem.*, **2007**, 44, 877.

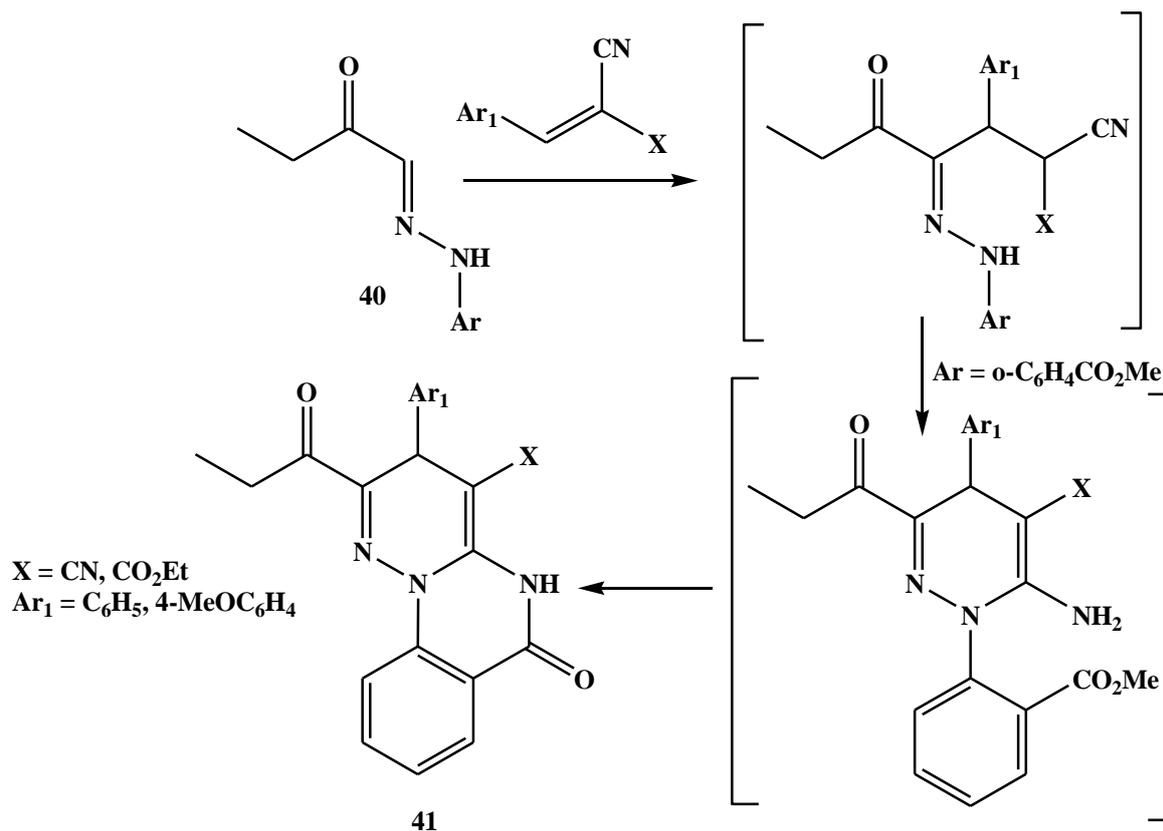


Schéma 13

Redzicka [14] s'est intéressé particulièrement à la synthèse des pyrrolo[3,4-d]pyridazinones utilisés comme agent analgésique. Ces produits ont été préparés à partir de l'acide anhydride 1-phénylpyrrole-3,4-dicarboxylique selon la séquence réactionnelle décrite dans le Schéma 14.

[14]. W. Malinka, A. Redzicka, M. J. Wiesek, B. Filipek, M. Dybala, Z. Karczmarzyk, Z. U. Lipkowska, P. Kalicki. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 4992.

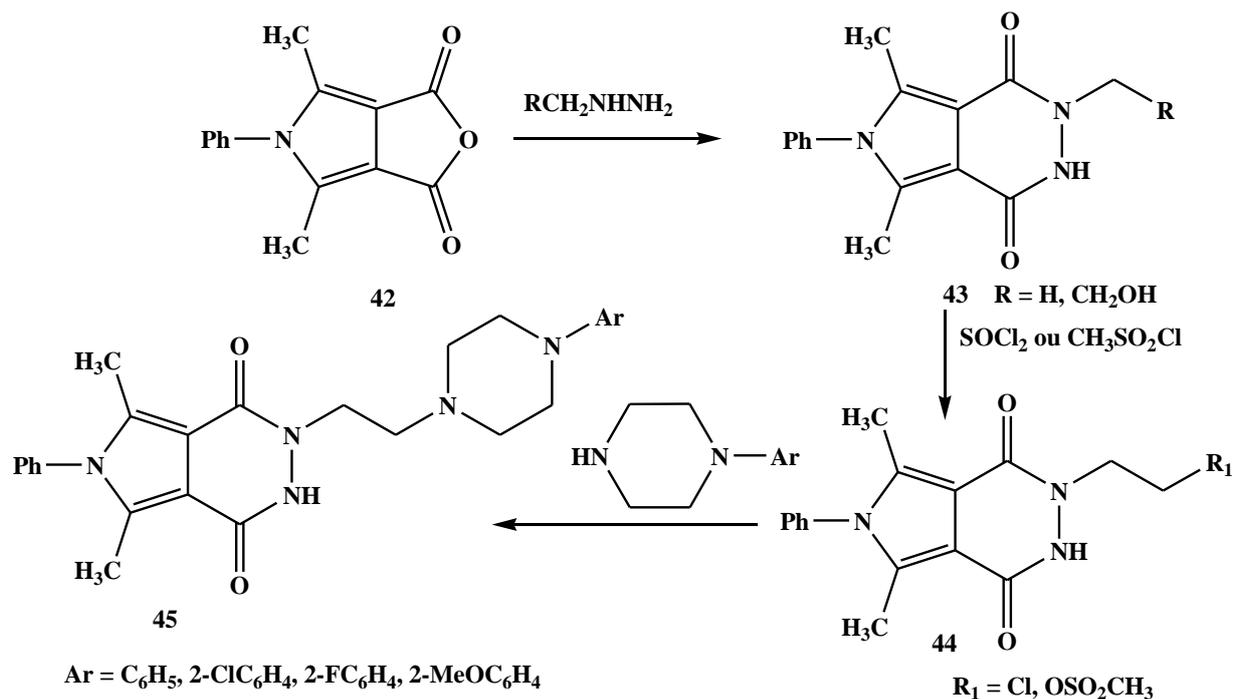


Schéma 14

En 2010, Giovannoni et coll. [15] ont décrit la synthèse de nouveaux pyrazolo[3,4-d]pyridazinones à partir de la réaction des pyrazoles fonctionnalisés avec l'hydrazine à reflux de l'éthanol et qui ont montré une activité inhibitrice de phosphodiesterase (PDE) intéressante (Schéma 15).

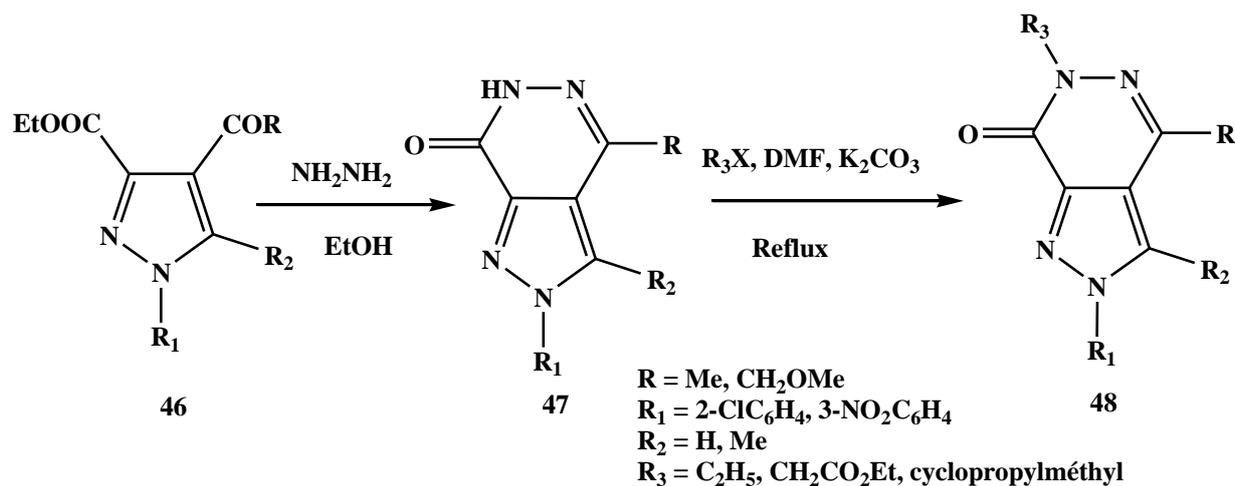


Schéma 15

[15]. P. Biagini, C. Biancalani, A. Graziano, N. Cesari, M. P. Giovannoni, A. Cilibrizzi, V. D. Piaz, C. Vergelli, L. Crocetti, M. Delcanale, E. Armani, A. Rizzi, P. Puccini, P. M. Gallo, D. Spinabelli, P. Caruso. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 3506.

Les données rapportées par la littérature montrent que le squelette pyridazinone fait partie d'une gamme très importante de produits biologiquement actifs dont l'activité biologique et pharmacologique varie selon la structure hétérocyclique des dérivés de la pyridazinone.

En effet, l'intérêt présenté par les hétérocycles dont le motif principal est la pyridazinone justifie la poursuite des efforts dans le développement de nouvelles stratégies de synthèse et de fonctionnalisation des différents sites de ce motif. Les données de la littérature, montrent aussi que les précurseurs utilisés dans la synthèse des dérivés de pyridazinone sont généralement les dérivés de l'hydrazine condensés avec les réactifs difonctionnels-1,4.

Pour notre part, nous avons utilisé une autre voie de synthèse des dérivés de la pyridazinone mettant en œuvre la condensation de la 2-pyrone avec les dérivés de l'aniline. Nous avons étudié leur réactivité vis-à-vis des agents binucléophiles tels que l'hydrazine et la phénylhydrazine. Dans la deuxième partie de ce chapitre nous avons synthétisé des pyridazin-3(2H)-ones ayant des sites dipolarophiles potentiels à partir de la réaction de condensation de trois réactifs : l'acide lévulinique, les dérivés d'aldéhyde et l'hydrazine. Le dernier paragraphe fera l'objet de l'évaluation biologique, de quelques molécules, effectuée sur des cellules tumorales.

II- Condensation de 2-pyrone avec les dérivés de l'aniline

Avant la présentation de nos résultats, nous avons jugé nécessaire d'effectuer quelques rappels bibliographiques sur l'importance de la condensation avec la pyran-2-one.

II-1- Réactivité de la 2-pyrone vis-à-vis des amines hétérocycliques

L'utilisation de la 4-hydroxy-6-méthylpyran-2-one **49** (figure 1) comme agent d'hétérocyclisation a reçu une attention considérable ces dernières années. De ce fait, cette hydroxylactone s'est avérée un synthon de choix dans la préparation de plusieurs composés hétérocycliques.

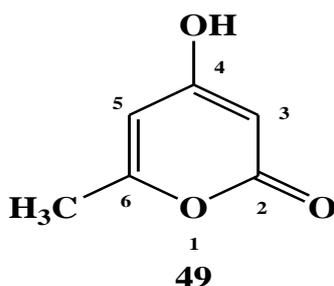


Figure 1 : 4-Hydroxy-6-méthylpyran-2-one

Par exemple Essassi et coll. [16] ont étudié la condensation des aminobenzimidazoles **50** et **51** avec la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone **49**, à reflux du *n*-butanol. Ils obtiennent respectivement les produits de structure 6-(méthyl-2-oxo-1-pyridyl)benzimidazole **52** et 7-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-1-pyridyl)-benzimidazoles **53** (Schéma 16). La voie de cyclisation mise en œuvre est de type C-2 / NH₂ / C-6.

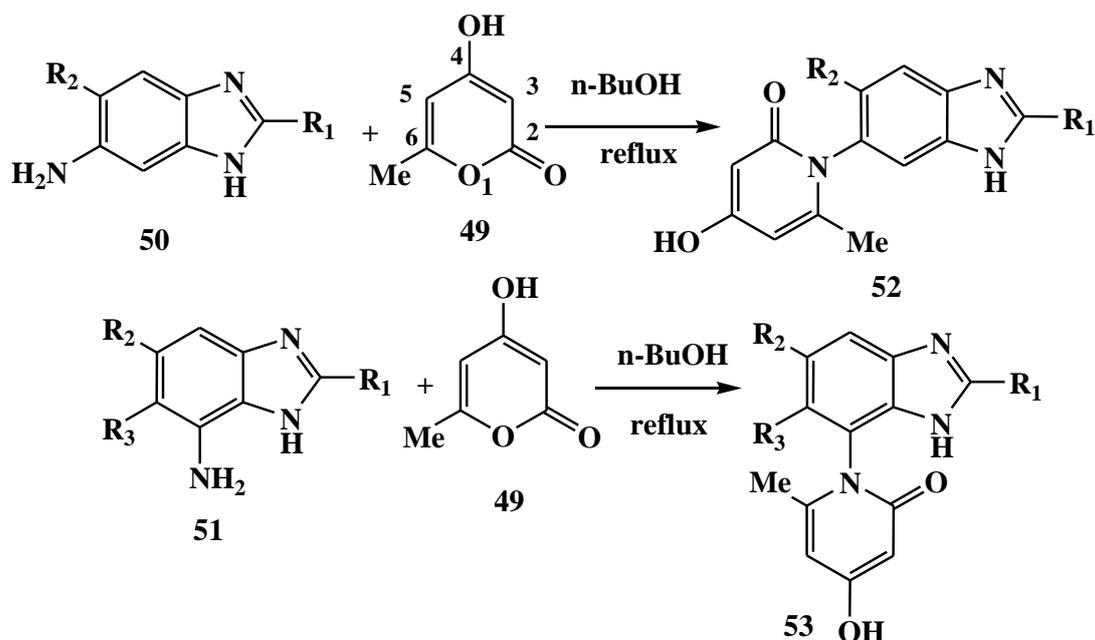


Schéma 16

Pour synthétiser de nouveaux composés de structure *s*-triazolo[1,5-*a*]pyrimidines, El Otmani et coll. [17,18] ont examiné la condensation de la 4-hydroxy-6-méthylpyrone **49** avec la 3-amino-*s*-triazole **54** dans différents alcools à des durées de réaction variées. Ils ont isolé dans chaque cas trois produits (Schéma 17): la 5,7-diméthyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine **55**, les 7-alkoxycarbonylméthylèn-5-méthyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine **56** et leurs isomères les 5-alkoxycarbonylméthylèn-7-méthyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine **57**. Les cyclisations mises en œuvre sont de types (C-6 / H₂N-C-N₂ / C-4) et (C-6 / H₂N-C-N₄ / C-4).

[16] A. El Kihel, M. Benchidmi, E. M. Essassi, R. D. Bougot, *Synth. Commun.*, **1999**, 29, 2435–2445.

[17] B. El Otmani, Thèse de troisième cycle, **1996**, Université Mohamed V, Rabat.

[18] M. Fettouhi, A. Boukhari, B. El Otmani, E. M. Essassi, *Acta. Cryst.*, C52, **1996**, 1031-1032.

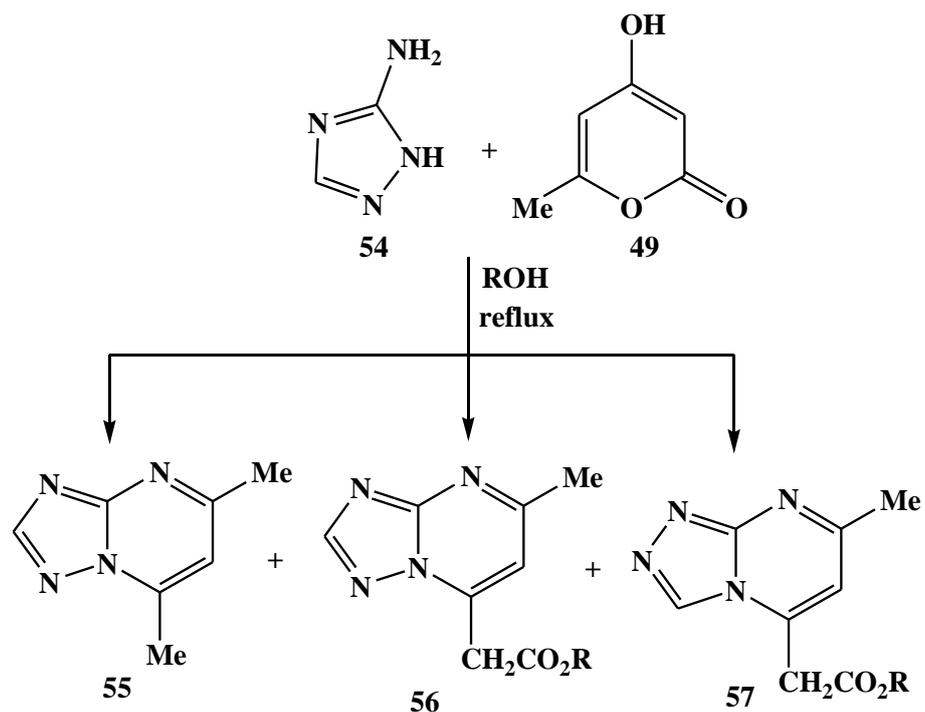


Schéma 17

Par ailleurs, l'équipe de Essassi [19] a montré l'efficacité de cette réaction au départ de la 2-aminoimidazole **58** pour synthétiser des dérivés imidazo[1,2-a]pyrimidiniques **59** et **60** (Schéma 18).

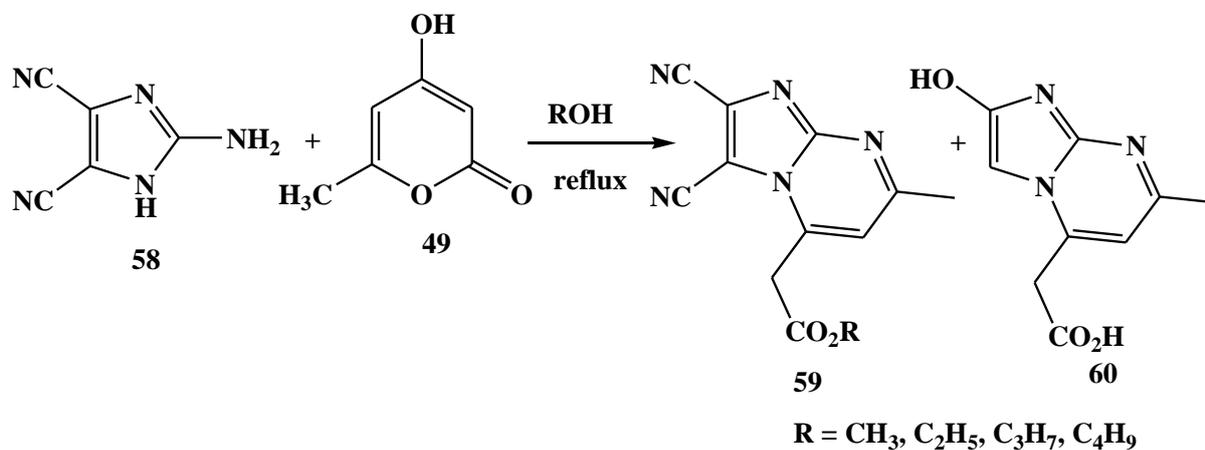


Schéma 18

[19] B. Elotmani, M. El Mahi, R. Bouhfid, E. M. Essassi, T. Rohand, W. Dehaen, L. El Ammari. *ARKIVOC*, **2008**, (ii), 59.

En 2004, l'équipe de Rakib [20] a rapporté la condensation de la pyran-2-one **49** avec la 3-aminopyrazolone **61** pour synthétiser les pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-3-ones. Cette séquence a permis de mettre en évidence l'influence du solvant sur les sites d'ouverture de la 4-hydroxy-6-méthylpyran-2-one et, par conséquent, sur la structure de l'hétérocycle formé (Schéma 19).

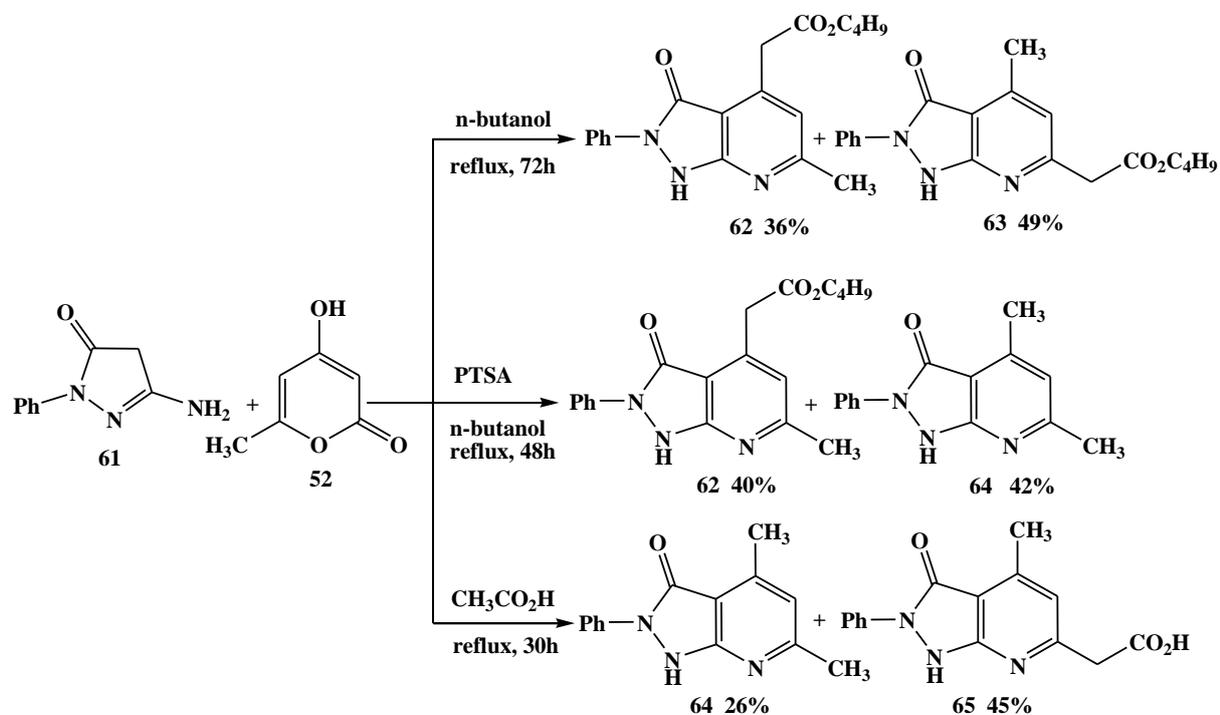


Schéma 19

Ils ont étudié également la réaction de condensation de la 2-pyrone **49** avec les dérivés de 7-aminoindazole **66** dans différents solvants [21,22]. Ces conditions réactionnelles ont permis d'accéder à la synthèse des pyrazolo[4,5-*h*]quinolines **67**, des pyrazolo[1,5,4-*ef*][1,5]benzodiazépines **68** et des *N*-(1*H*-7-indazolyl)-pyridinones **69** (Schéma 20).

[20] S. Fadel, Y. Hajbi, E. M. Rakib, M. Khouili, M. D. Pujol, G. Guillaumet. *Synth. Commun.* **2004**, 34, 2195.

[21] E. M. Rakib, M. Benchidmi, E.M. Essassi, A. El Bouadili, M. Khouili, M. Visseaux, M. D. Pujol, *Heterocycles*, **2000**, 53, 2617-2627.

[22] E. M. Rakib, L. Bouissane, A. Hannioui, M. Benchidmi, E.M. Essassi. *Synth. Commun.*, **2008**, 38, 3523-3529.

II-2- Synthèse des acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxyliques

En deux étapes, nous avons préparé une nouvelle série d'acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxyliques selon la procédure décrite par J. F. Morgan [24]. La première étape consiste à faire réagir les sels de diazonium **73** avec la 2-pyrone **49** en présence de carbonate de sodium conduisant aux 2-arylhydrazono-6-méthyl-pyran-2,4-ones **74**. Ces derniers sont traités ensuite avec l'acide chlorhydrique concentré pour aboutir aux acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxyliques **75** avec de bon rendements (Schéma 22). Les sels de diazonium **73** sont obtenus par simple diazotation des dérivés de l'aniline **72** avec le nitrite de sodium dans l'acide chlorhydrique.

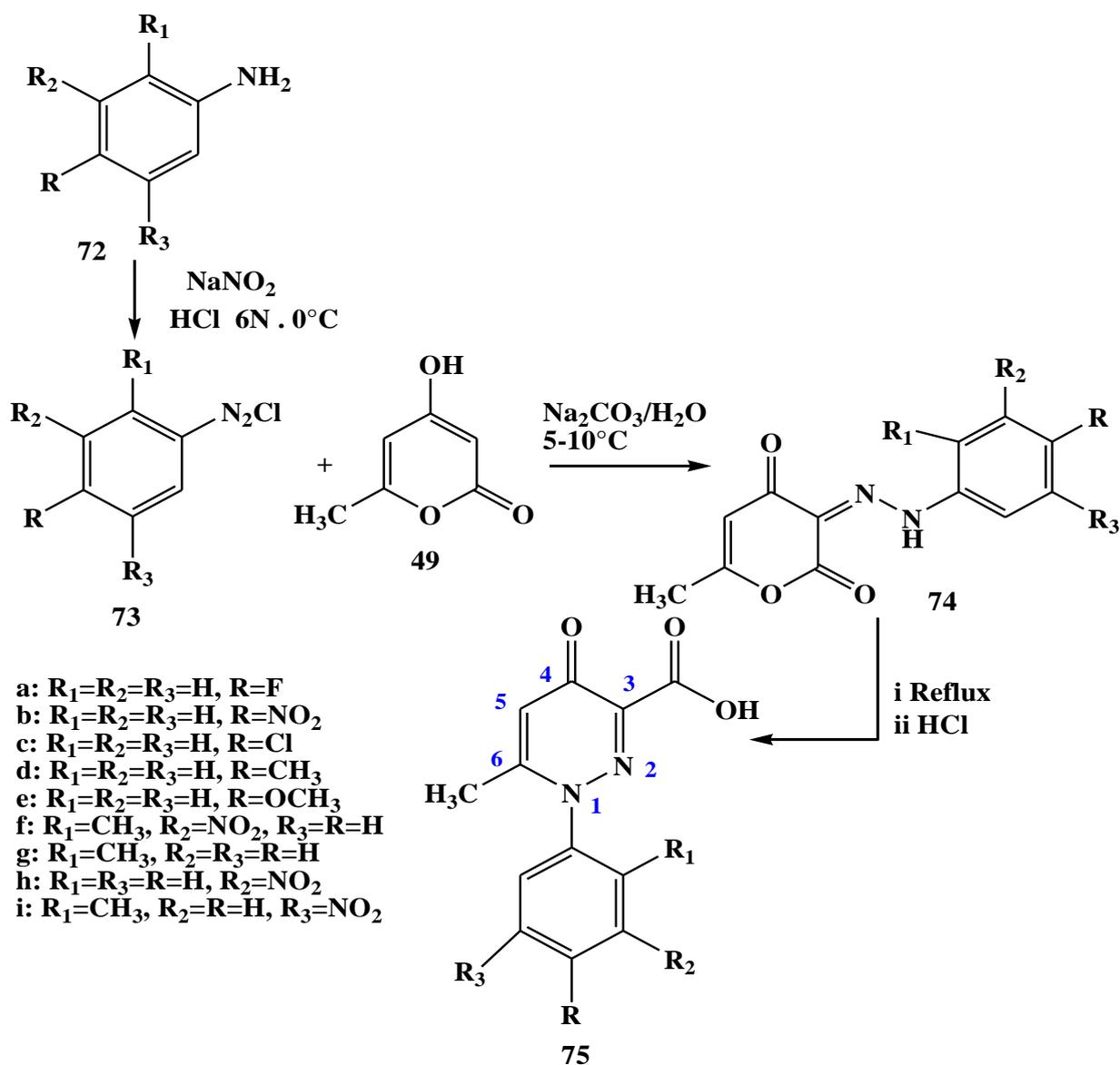


Schéma 22

[24] J. F. Morgan. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, 70, 2253

Tableau 1 : Rendements des composés **75a-i** obtenus à partir de la réaction de 2- pyrone avec les dérivés de l'aniline

Ar	Rendement (%) 75a-i
a: R₁= R₂= R₃= H, R=F	68
b: R₁= R₂= R₃= H, R=NO₂	61
c: R₁= R₂= R₃= H, R=Cl	57
d: R₁= R₂= R₃= H, R= CH₃	47
e: R₁= R₂= R₃= H, R= OCH₃	45
f: R₁=CH₃, R₂=NO₂, R₃=R=H	56
g: R₁=CH₃, R₂=R₃=R=H	64
h: R₁=R₃=R=H, R₂=NO₂	57
i: R₁=CH₃, R₂=R=H, R₃=NO₂	65

Les structures des composés **74** et **75** ont été identifiées par les données spectrales (RMN ¹H, RMN¹³C et IR).

Dans le spectre RMN ¹H du composé **74c** on note, outre les signaux correspondants aux protons aromatiques, un singulet à 2.26 ppm dû aux protons du groupe méthyle et un singulet à 5.86 ppm dû au proton vinylique en position cinq de la pyran-2,4-dione.

Dans le spectre de RMN¹³C, on observe en particulier la présence d'un signal à 106.52 ppm dû au carbone vinylique et deux signaux à 165.91 ppm, 180.05 ppm correspondant respectivement au carbone de la fonction ester (C-2) et au carbone de la fonction cétonique en position quatre (C-4).

Les spectres RMN¹H des composés **75a-i** montrent, en plus des signaux des protons aromatiques, un signal à 2.25-2.40 ppm attribuable aux protons du groupe méthyle et un signal vers 6.89-7.21 ppm correspondant au proton vinylique du cycle pyridazinique.

Dans les spectres RMN¹³C des composés **75a-i**, on note en particulier la présence d'un signal à 120.1-121.1 ppm associé au carbone vinylique et deux signaux à 162.6-163.07 ppm, 170.6-171.8 ppm dus respectivement au carbone de la fonction acide (CO₂H) et au carbone

cétonique (C-4). Nous présentons dans les figures suivantes un exemple de spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT des composés **75h** et **75i**.

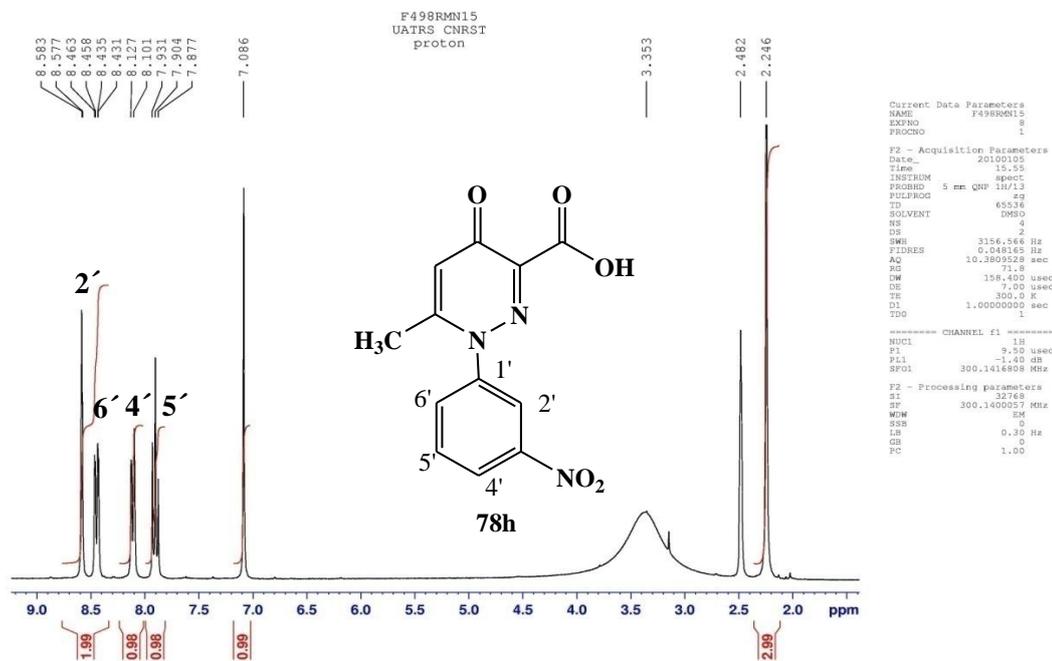


Figure 2: Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz) du composé **75h**

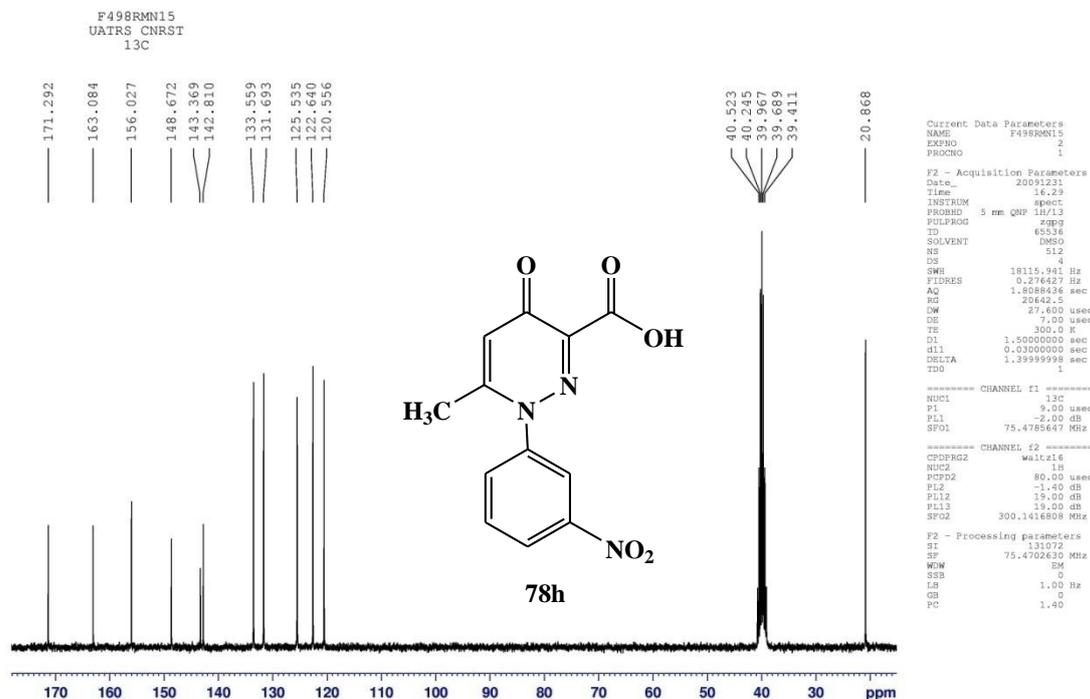


Figure 3: Spectre RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) du composé **75h**

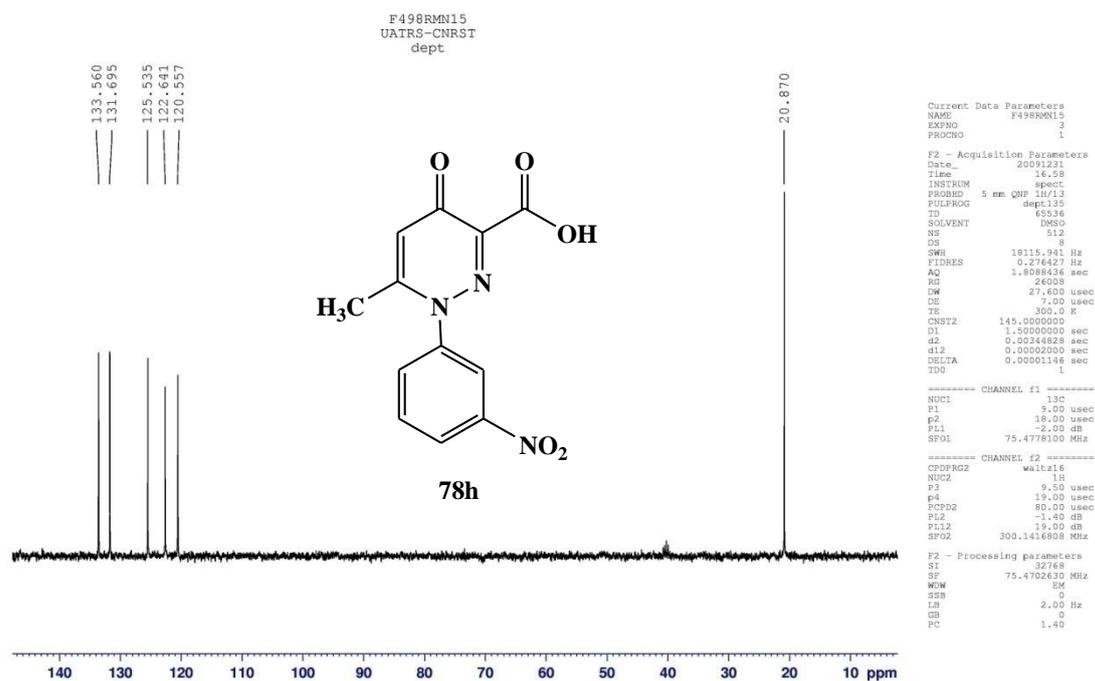


Figure 4: Spectre RMN¹³C (DMSO-d₆, DEPT) du composé **75h**

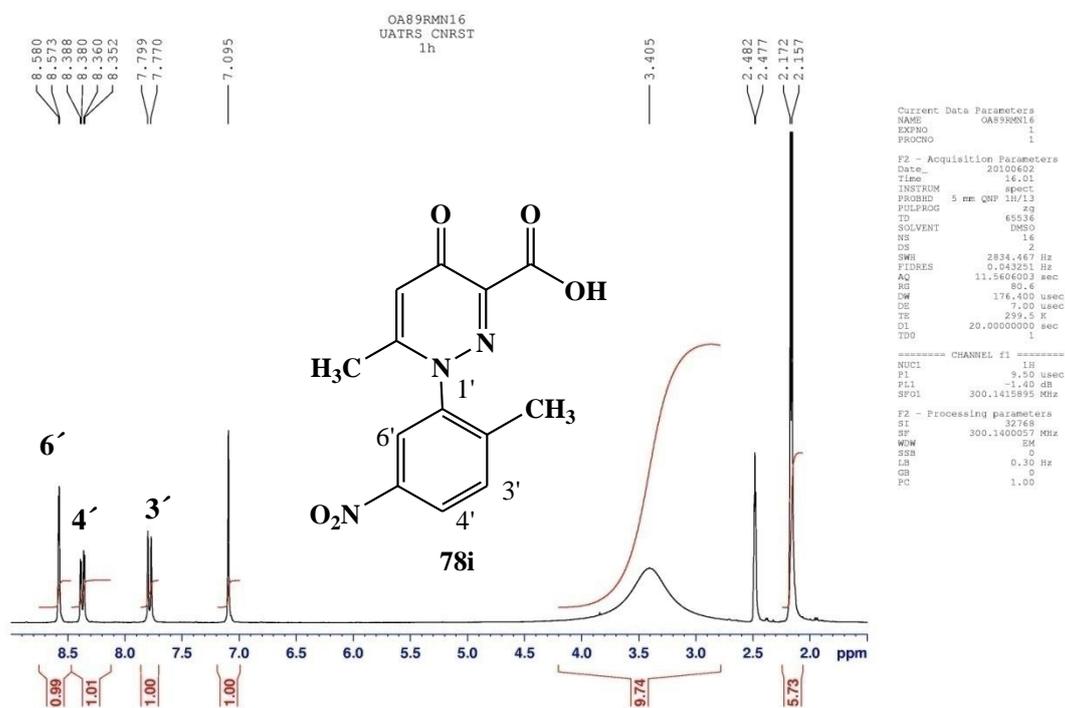


Figure 5 : Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz) du composé **75i**

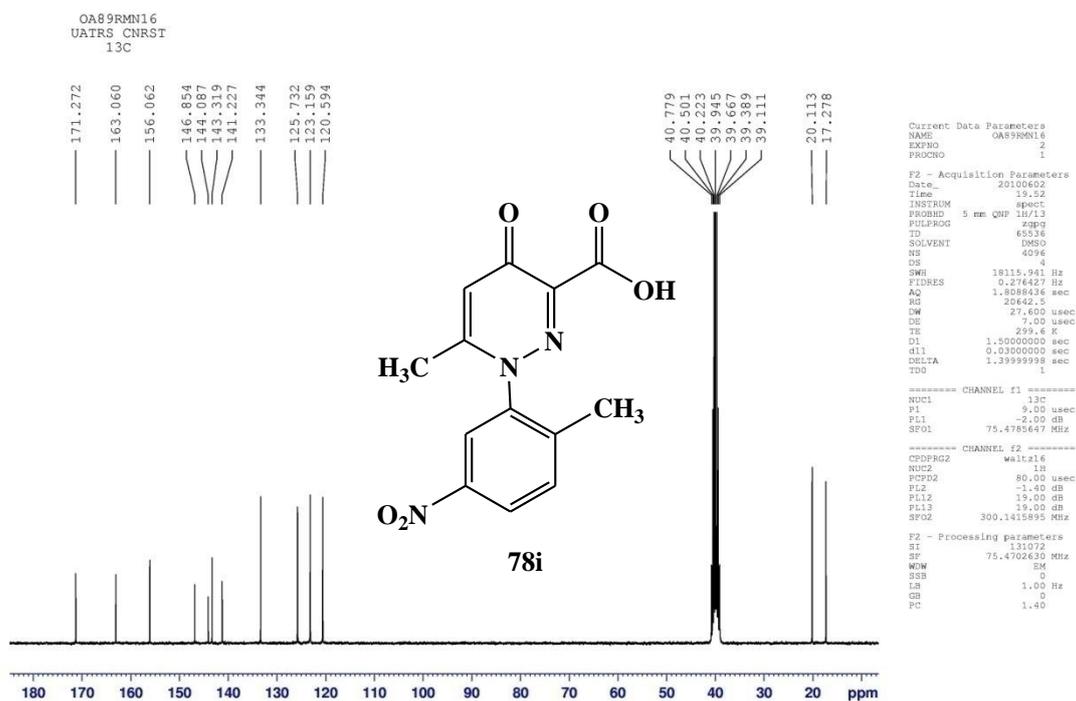


Figure 6 : Spectre RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) du composé **75i**

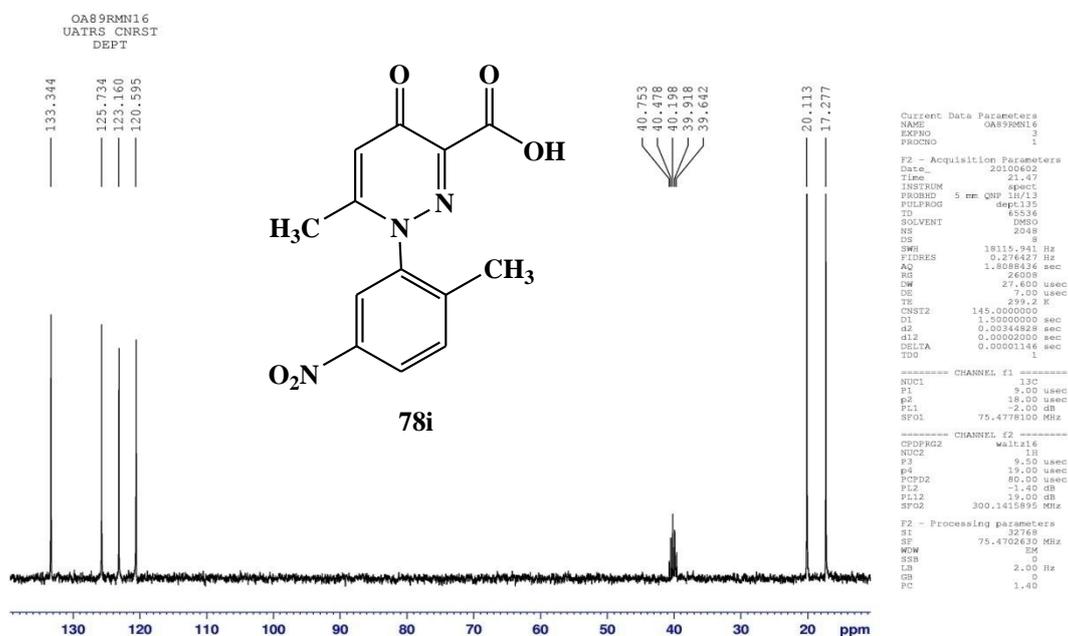


Figure 7 : Spectre RMN¹³C (DMSO-d₆, DEPT) du composé **75i**

Pour expliquer la formation des composés **75a-i** nous avons proposé le mécanisme suivant : l'attaque initiale des sels de diazonium sur la 2-pyrone **49** conduit aux hydrazones pyraniques **74a-i**. L'hydrolyse acide des intermédiaires **74a-i** conduit à l'ouverture du cycle pyranique (se forme énolique en équilibre avec le forme cétonique qui est minoritaire pour la synthèse avec de bon rendement) suivi d'une recyclisation intramoléculaire pour aboutir aux 4-pyridinones **75a-i** (Schéma 24).

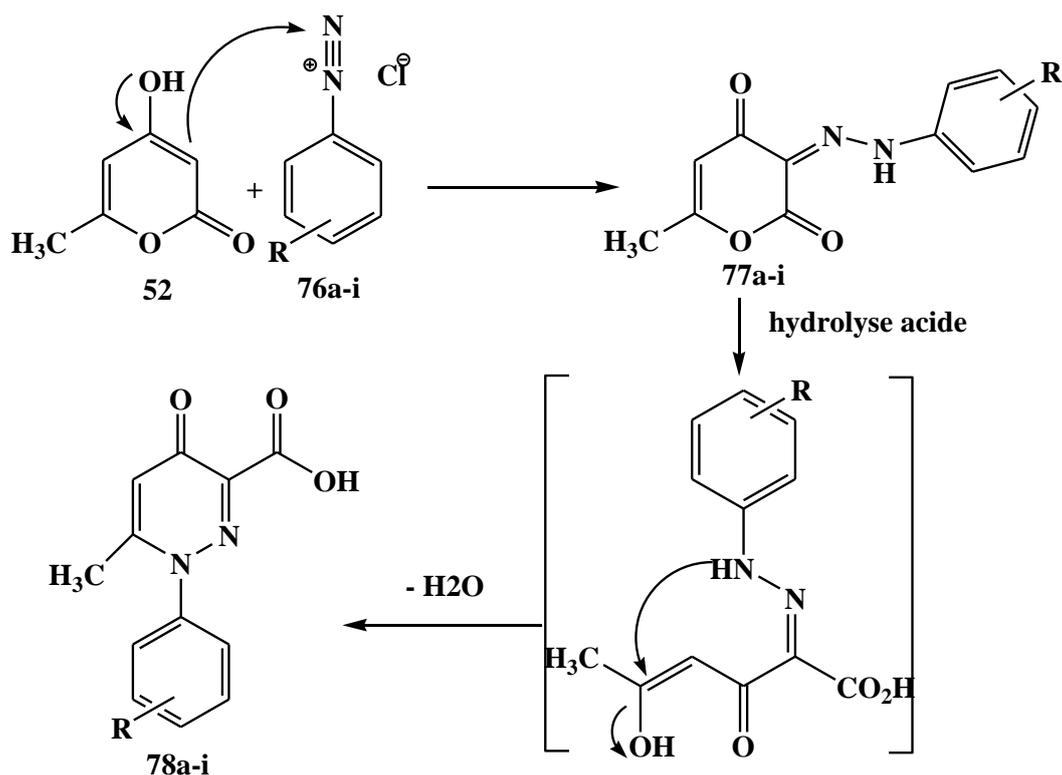


Schéma 23

III- Etude de la réactivité des 4-pyridazinones

La présence de plusieurs centres électrophiles dans l'acide 1-aryl-1,4-dihydro-4-oxo-6-méthyl pyridazine-3-carboxylique **75** tels que les groupes carbonyles de la fonction acide et de la fonction cétonique confère à cet hétérocycle une grande réactivité faisant de lui un excellent précurseur pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à visée thérapeutique. Pour cela, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de la réactivité des 4-pyridazinones vis-à-vis des dérivés de l'hydrazine.

Ainsi, l'action de l'hydrazine sur l'acide 1-(aryl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique **75a,b** porté à reflux de l'éthanol pendant quatre heures, conduit au 5-(aryl)-6-méthyl-2H-pyrazolo[4,3-c] pyridazin-3(5H)-one **76a,b** avec un bon rendement (Schéma 24).

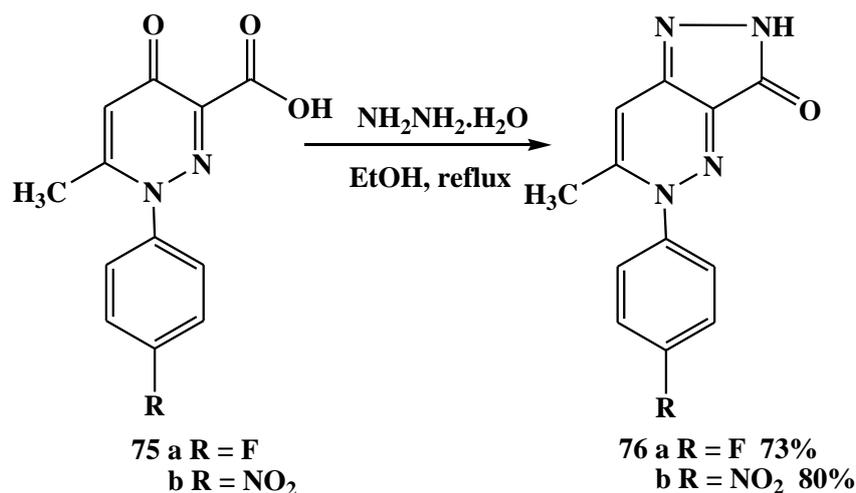


Schéma 24

Les structures des composés **76a,b** ont été caractérisées par les données spectrales RMN¹H et RMN¹³C.

Dans le spectre RMN¹H du composé **76a**, on note en particulier, la présence d'un signal à 11,90 ppm dû au proton du groupe NH du cycle pyrazolique et un signal à 7,21 ppm correspond au proton vinylique.

Dans le spectre RMN¹³C, on note en particulier la présence d'un signal à 159.9 ppm dû au carbone du groupe carbonyle de la fonction amide du cycle pyrazolique (CONH).

La même réaction d'hydrazinolyse du pyridazinone **75a** avec la phénylhydrazine portée à reflux de l'éthanol pendant quatre heures a permis d'isoler le dérivé pyrazolo[4,3-c]pyridazin-3-one **77** avec un bon rendement (Schéma 25).

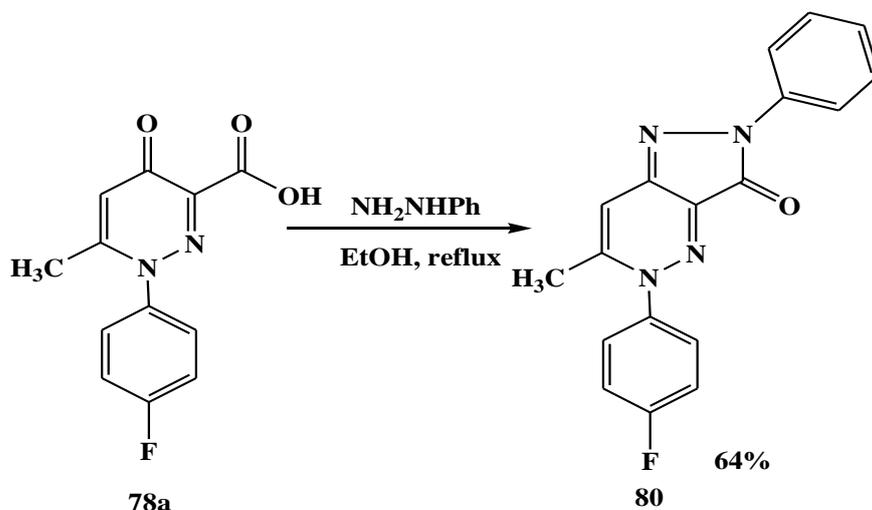


Schéma 25

Le spectre RMN¹H du composé **77** montre en particulier l'apparition des signaux caractéristiques aux protons de l'homocycle benzénique.

Pour élargir notre étude à la synthèse de nouveaux dérivés de la pyridazinone, nous avons envisagé une autre méthode de synthèse mettant en oeuvre la condensation multi composé de trois réactifs: l'acide lévulinique, les dérivés d'aldéhyde et l'hydrazine.

IV- Synthèse et réactivité de nouveaux dérivés pyridazine-3(2H)-one

IV-1- Synthèse des 6-aryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-ones

Pour la préparation des 6-aryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-ones **81a,b**; nous avons adopté la procédure de synthèse décrite par Sircar et coll [25]. La condensation des dérivés d'aldéhyde **79** avec l'acide levulinique **78** dans le toluène en présence de morpholine et de l'acide acétique nous a permis d'obtenir le produit intermédiaire **80**. Ce dernier porté à reflux de l'acide acétique glacial en présence de l'hydrazine monohydraté conduit aux pyridazinones escomptés **81a** et **81b** avec des rendements respectifs de 65 et 62% (Schéma 26).

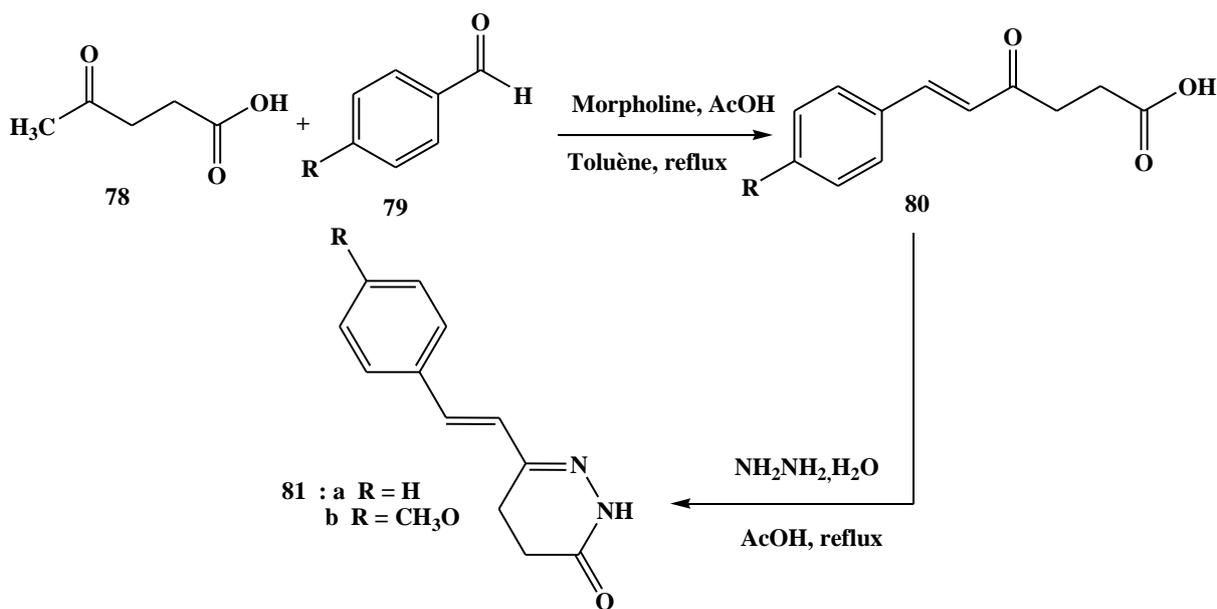


Schéma 26

Les structures des composés **81a,b** sont caractérisés par les données spectrales IR, RMN¹H et RMN¹³C.

Le spectre RMN¹H du composé **81a** présente en particulier deux signaux à 2,42 et 2,78 ppm dû aux protons du méthylène, et deux doublets vers 6,88 ppm et 7,05 ppm dus aux protons vinylique CH avec constante de couplage 16,6 Hz. Cette valeur de constante de couplage montre que les protons sont en position trans par rapport à la double liaison.

Nous présentons dans les figures suivantes les spectres RMN¹H et RMN¹³C du composé **81a**.

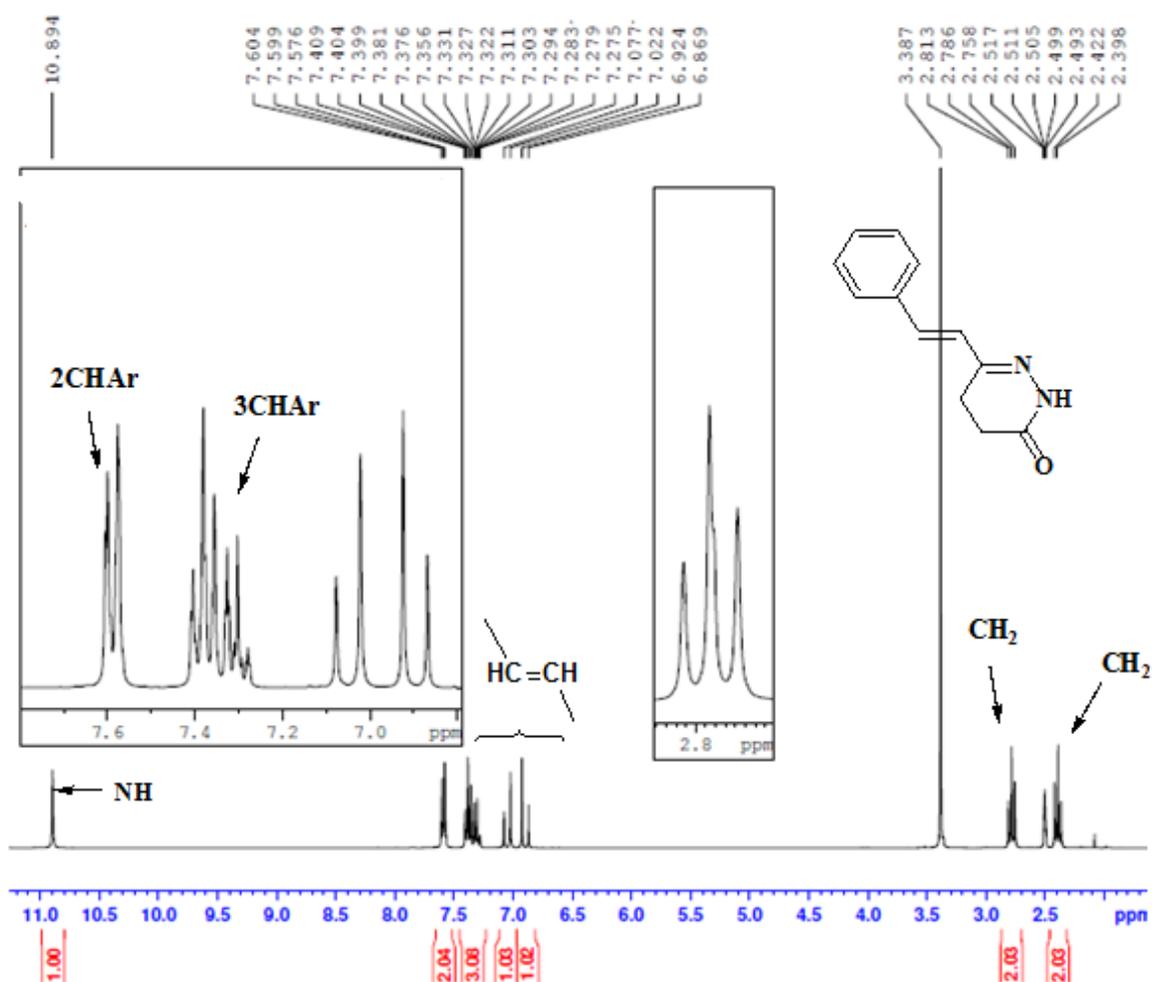


Figure 8: Spectre RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz) du composé **81a**

[25]. I. Sircar, R. P. Steffen, G. Bobowski, S. E. Burke, R. S. Newton, R. E. Weishaar, J. A. Bristol, D. B. Evans. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 342-350.

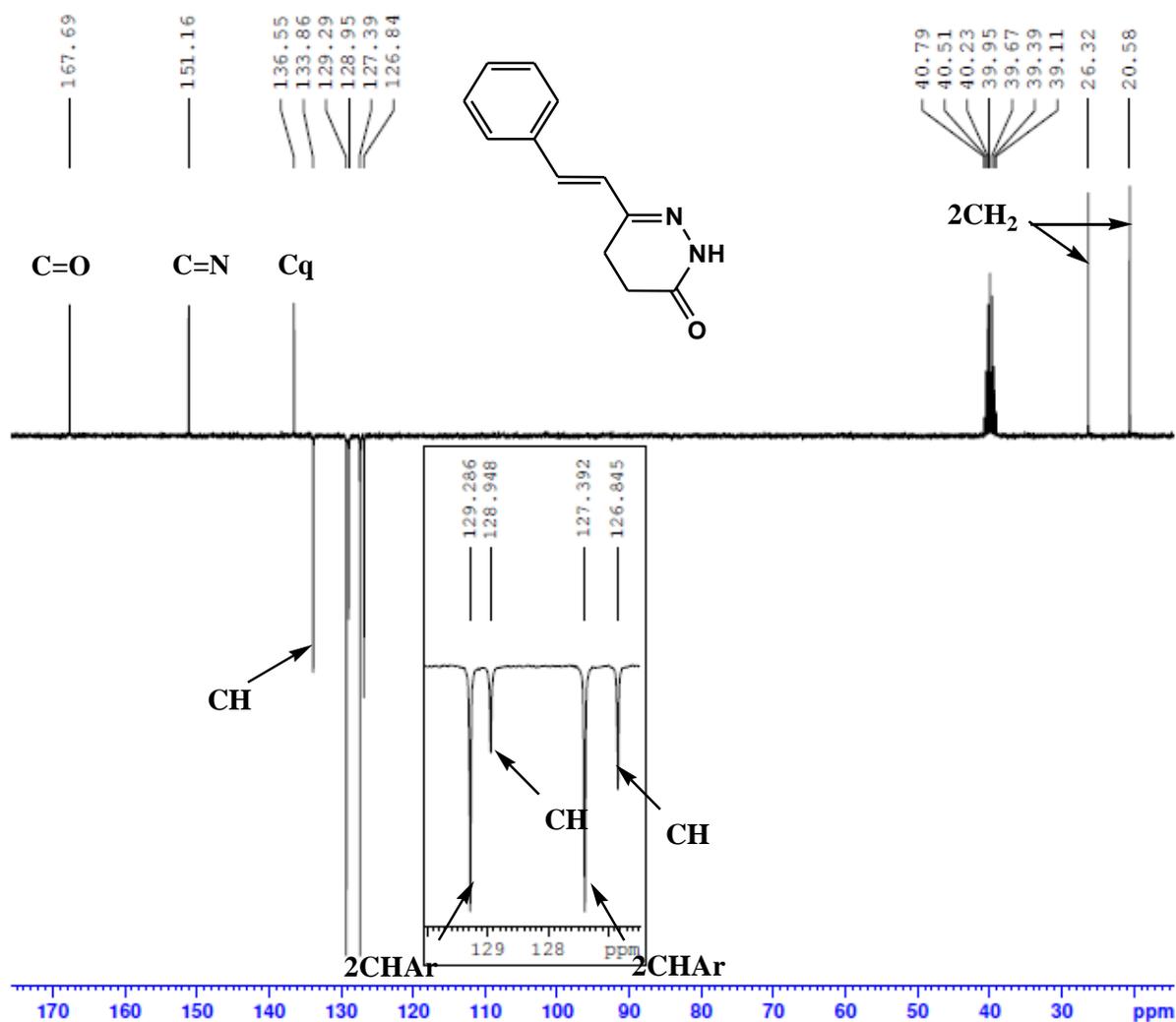


Figure 9: Spectre RMN¹³C (DMSO-d₆, DEPT) du composé **81a**

Outre l'analyse spectroscopique, l'analyse cristallographique par diffraction aux rayons X du composé **81a**, a permis d'établir avec exactitude la structure de la molécule (figure 10).

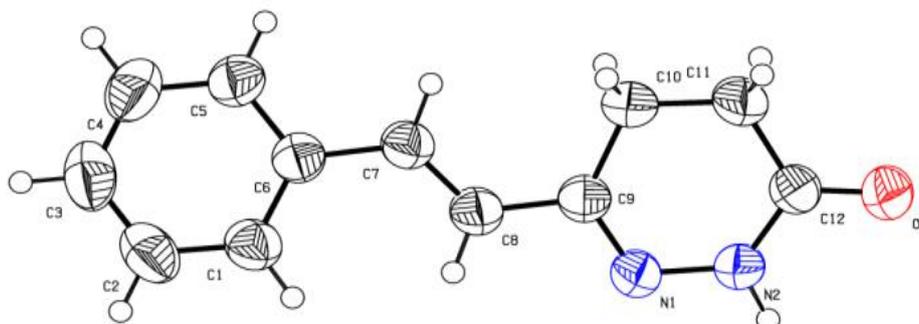


Figure 10: ORTEP du composé 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **81a**

Nous rapportons dans le tableau ci-dessous les données cristallographiques du produit **81a**.

Tableau 2: Données cristallographiques du composé **81a**

Chemical Formula: C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O	
Formula weight: 200.24	
Crystal system: monoclinic	Space group (no): P2 ₁ /n (14)
<i>a</i> = 8.0348 (6) Å	β = 101.074 (2)°
<i>b</i> = 11.1532 (6) Å	<i>V</i> = 1911.5(3) Å ³
<i>c</i> = 11.9941 (8) Å	<i>Z</i> = 4
<i>D_x</i> = 1.261 Mg m ⁻³	Mo <i>K</i> α radiation, λ = 0.71073 Å
μ = 0.08 mm ⁻¹	<i>F</i> (000) = 424
Crystal sizes = 0.34 * 0.25 * 0.23 mm ³	Crystal : Prism, colourless
No. of reflections collected = 11692	
No. of independent reflections = 2431	No. of reflections with <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>) = 1647
θ range for data collection: θ _{max} = 27.5°, θ _{min} = 2.5°	
Goodness-of-ft on F2 = 1.07	
R indices [<i>I</i> > 2s(<i>I</i>): R1 = 0.054, wR2 = 0.179	
(<i>D</i> / <i>s</i>) _{max} = 0.000	(<i>D_r</i>) _{max} = 0.527 eÅ ⁻³ (<i>D_r</i>) _{min} = -0.349 eÅ ⁻³
Measurement: X8 Apex, Bruker CCD	Program system: Apex 2
Structure determination: WinGX (SHELXL and SHELXS	

IV-2- Alkylation de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one

La réaction d'alkylation de la pyridazinone est généralement utilisée pour l'introduction du groupement pharmacophore afin d'augmenter le spectre d'activité biologique de ce type de structure. Dans cette perspective, nous avons étudié la réaction d'alkylation de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **81a** vis-à-vis de différents agents alkylants (CH₃I, BrCH₂CH=CH₂ et BrCH₂COC₆H₅) dans le THF, en présence de carbonate de potassium. Cette réaction nous a permis de localiser le site réactif et a conduit dans tous les cas à la synthèse des dérivés *N*-alkylpyridazinones **82a-c** avec un bon rendement (Schéma 27).

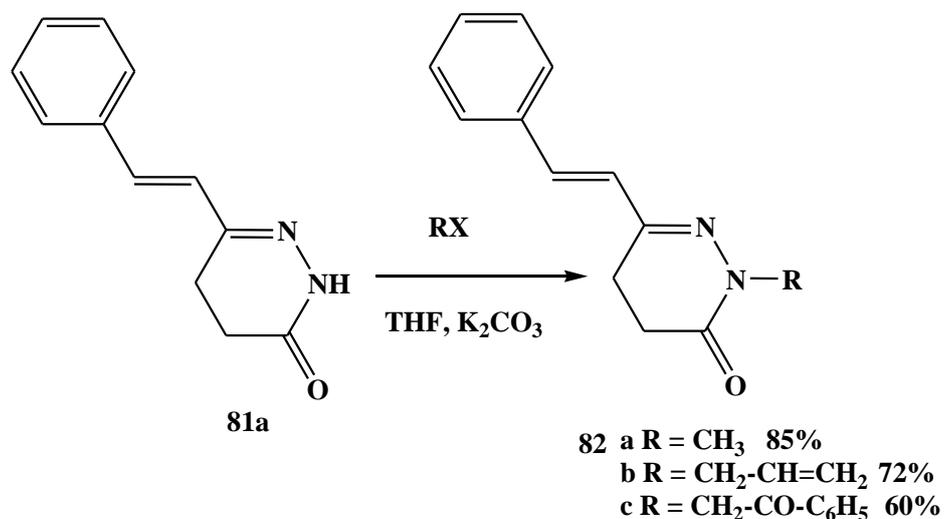


Schéma 27

Les structures des composés alkylés **82a-c** ont été identifiées grâce aux données spectrales (IR, RMN¹H et RMN¹³C).

L'analyse cristallographique par diffraction aux rayons X du composé **82a** confirme bien la N-alkylation de la pyridazinone **81a** (Figure 11).

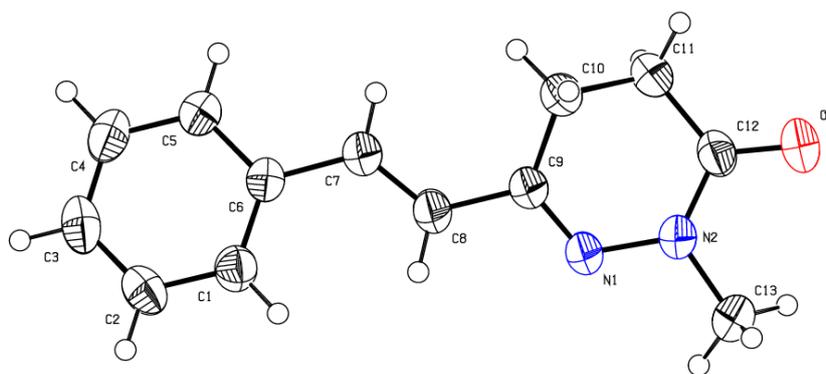


Figure 11: ORTEP de 2-méthyl-6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **82a**

Tableau 3 : Données cristallographiques du composé **82a**

Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O	
Formula weight: 214.26	
Crystal system: monoclinic	Space group : P2 ₁
$a = 6.1966 (3) \text{ \AA}$	$\beta = 96.035 (4)^\circ$
$b = 7.3246 (4) \text{ \AA}$	$V = 568.96 (5) \text{ \AA}^3$
$c = 12.6055 (7) \text{ \AA}$	$Z = 2$
$D_x = 1.261 \text{ Mg m}^{-3}$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
$\mu = 0.08 \text{ mm}^{-1}$	$F(000) = 228$
Crystal sizes = $0.25 * 0.25 * 0.18 \text{ mm}^3$	Crystal : Prism, colourless
No. of reflections collected = 13216	
No. of independent reflections = 4864	No. of reflections with $I > 2\sigma(I) = 3329$
θ range for data collection: $\theta_{\max} = 36.4^\circ$, $\theta_{\min} = 1.6^\circ$	
Goodness-of-ft on F2 = 1.04	
R indices [$I > 2s(I)$]: R1 = 0.051, wR2 = 0.167	
(D/s) max < 0.001	(Dr) max = 0.28 e\AA^{-3} (Dr)min = -0.23 e\AA^{-3}
Measurement: X8 Apex, Bruker CCD	Program system: Apex 2
Structure determination: WinGX (SHELXL and SHELXS)	

V- Activité anticancéreuse

Pour valoriser nos résultats expérimentaux obtenus sur la synthèse des nouvelles molécules pyridaziniques, nous avons effectué des tests biologiques sur quelques molécules afin d'évaluer *in vitro* leur activité antitumorale contre la lignée cellulaire **P815** (Cancer de sang).

• Cultures des cellules tumorales P815.

La lignée cellulaire tumorale P815 est cultivée en routine au Laboratoire d'Immunologie Biochimie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences et Technique de Béni-Mellal. Elle est entretenue en atmosphère humide à 37 °C en présence de 5% de CO₂ sur milieu de culture complet DMEM additionné de 5 % de sérum de veau fœtal, de 100 UI/ml de pénicilline et de 100 µg/ml de streptomycine.

• **Test de cytotoxicité in vitro**

Pour l'étude de l'activité cytotoxique, on utilise le test de cristal violet préalablement décrit [26,27], les cellules des lignées à tester sont récupérées à partir des cultures et lavées par centrifugation dans du PBS. Elles sont ensuite réparties dans des plaques de microtitration de 96 puits à fond plat à une densité de $7.5 \cdot 10^4$ cellules par puit contenant 100 μ l de milieu de culture. Le nombre de cellules viables à cultiver est déterminé par comptage à l'hématimètre en présence de 5% de CO₂. Les cellules sont ensuite mises en présence de concentrations décroissantes des produits à tester en commençant par la concentration de 1% v/v.

Après 48 heures d'incubation, la quantification de l'effet cytotoxique est faite par la technique du Cristal Violet ou MTT en utilisant l'adriamycine comme contrôle positif et DMSO comme contrôle négatif.

La densité optique est alors mesurée dans chaque puit de la plaque à 540 nm pour l'utilisation de la technique du Cristal Violet. Par contre lorsque la technique est réalisée par MTT la densité est mesurée par l'utilisation de deux longueurs d'ondes (540 et 634 nm) à l'aide d'un appareil de multiscan (Labsystem, Finlande).

L'expression des résultats est sous forme de moyenne des absorbances (**DO**) relatives au contrôle négatif en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Lyse} = (1 - \text{DO} / \text{DO}_0) \cdot 100$$

DO₀ : Densité optique des cellules non traitées (contrôle négatif)

DO : Densité optique des cellules traitées.

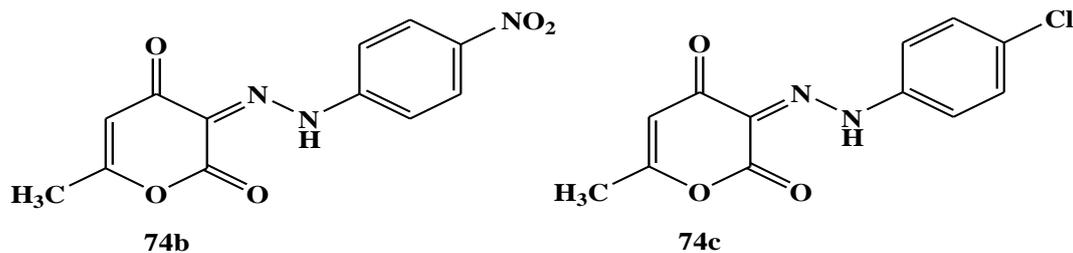
L'activité cytotoxique des produits est comparée en utilisant les valeurs des concentrations inhibitrices (**IC₅₀**) qui donne 50% de lyse de la prolifération cellulaire.

• **Résultats**

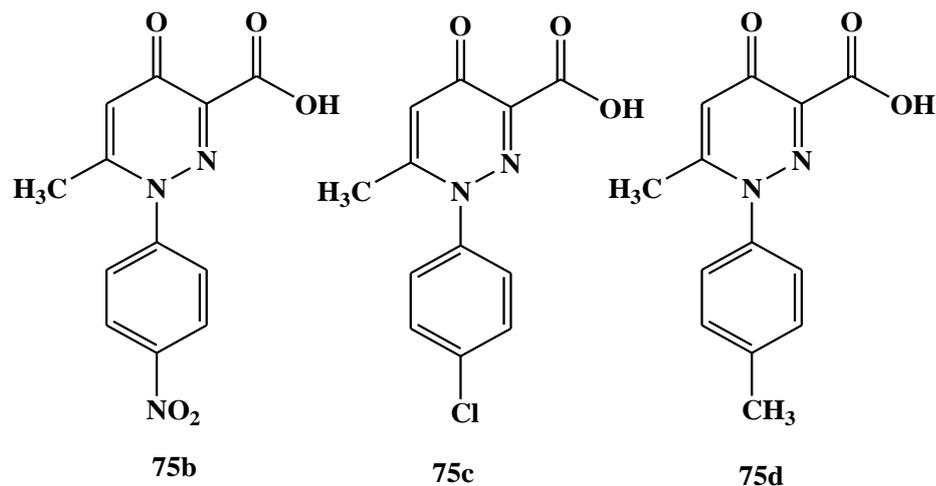
Deux séries de produits ont été testées in vitro contre la lignée cellulaire **P815**: Les 2-arylhyaazono-6-méthyl-pyranes-2,4-ones (**Série I**) et les acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4 dihydropyridazine-3-carboxylique (**Série II**).

[26]. A. Zyad, D. Branellec, Mahe, T. Tursz, S. Chouaib, *Int. J. Cancer.* , **1992**, 52, 953.

[27]. A. Zyad, J. Bénard, T. Tursz, R. Clarke, S. Chouaib, *Cancer Research.* , **1994**, 54, 825.



Série I : 2-Arylhydrazono-6-méthyl-pyranes-2,4-ones



Série II : 1-Aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxyliques

Les résultats des tests pharmacologiques des composés testés *in vitro* sur des cellules tumorales de la lignée P815 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 4: Effet cytotoxique des composés **74b,c** et **75b-d** sur la lignée cellulaire P815

Composé	IC ₅₀ (µg/ml)
74b	11,73
74c	3,14
75b	0,40
75c	1,01
75d	0,72

Ces résultats montrent que les pyridazin-4-ones **75b-d** sont plus actifs que les pyran-2,4-diones **74b,c**. On remarque aussi, que l'activité cytotoxique des dérivés de la pyridazin-4-one dépend fortement de la nature du groupe en position para du cycle benzénique. Ainsi, le composé **75b** (R=NO₂) présente une activité cytotoxique plus importante que leurs homologues

para substitués **75c,d**. La concentration inhibitrice du composé **75b** est de 0,40 µg/ml. Ce résultat montre que la nature du substituant sur l'homocycle benzénique joue un rôle primordial pour le spectre d'activité des pyridazinones synthétisés.

VI- Conclusion

Nous avons donc synthétisé une nouvelle série d'acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique à partir de la réaction de condensation des dérivés de l'aniline substituée en différentes positions avec le 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone. Cette voie de synthèse, nous a permis d'ajouter un squelette pyridazinique à la bibliothèque de structures hétérocycliques préparées à partir de la 2-pyrone.

L'étude de la réactivité de pyridazin-4-one vis-à-vis des dérivés de l'hydrazine nous a permis d'obtenir des pyrazolo [4,3-c] pyridazinones avec de bons rendements.

Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous avons préparé de nouvelles structures dérivés de pyridazin-3(2H)-one mettant en oeuvre la réaction de condensation multicomposés de trois réactifs : l'acide levunilique, les arylaldéhydes et l'hydrazine hydraté. L'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis de différents agents alkylants, nous a permis de localiser le site réactif et d'aboutir à la synthèse des *N*-alkyl-pyridazin-3-ones avec de bons rendements. Le 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **81a** présente trois sites dipolarophiles: la double liaison C=N, la double liaison C=C et la double liaison C=O. La réactivité du composé **81a** vis-à-vis des dipôles 1,3 fera l'objet du chapitre II.

La dernière partie de ce chapitre a fait l'objet de l'étude des tests pharmacologiques réalisés *in vitro* sur quelques molécules de l'hydrazonopyran-2,4-dione et de l'acide 4-pyridazinone. Les résultats obtenus montrent que les dérivés pyridaziniques présentent une activité cytotoxique importante vis-à-vis des cellules tumorales P815. L'acide 6-méthyl-1-(4-nitrophényl)-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique **75b** est le plus actif dans cette série des pyridazinones (IC₅₀ = 0,40 µg/ml). Ce composé peut être utilisé comme un élément clé pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

VII- Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

Les points de fusion non corrigés ont été pris en tube capillaire sur l'appareil Buchi-Tottoli. Toutes les masses molaires (MM) qui sont indiquées dans la partie expérimentale sont exprimées en grammes par mole.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés dans CDCl_3 , DMSO-d_6 et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75MHz instruments (^{13}C). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN ^{13}C ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT 135).

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 577 en pastille de bromure de potassium pour les solides.

Les spectres de masse basse résolution (MS) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer Sciex API 3000 spectromètre

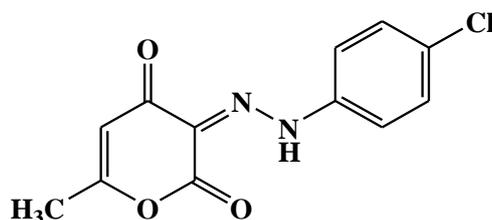
La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0,2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

Les réactifs du commerce ont été utilisés sans aucune purification, sauf mention contraire.

Synthèse des 3-(2-aryldiazono)-6-méthyl-3H-pyran-2,4-diones 74a-i.

Mode opératoire générale: On dissout le 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone (0.5g, 3,96 mmol) dans 20 ml d'eau et on ajoute (2.24g, 21,03 mmol) de carbonate de sodium pour rendre la solution alcaline. Dans un flacon, on dissout 4.20 mmol du dérivé de l'aniline dans 10 ml HCl (6N). On refroidi la solution à 0°C puis on ajoute une solution de nitrite de sodium (0.35g, 5,04 mmol) dissoute dans 5 ml d'eau à 0°C . La solution de sel de diazonium obtenue est ajoutée goutte-à-goutte à la solution de 2-pyrone tout en maintenant la température entre $5-10^\circ\text{C}$ et un $\text{pH} = 10-12$. Le précipité obtenu est filtré et laver plusieurs fois par un mélange eau éthanol.

(3-(2-(4-Chlorophényl) hydrazono)-6-méthyl-3H-pyran-2,4-dione (74c)



Rdt: 70%.

PF (°C): 239-241.

IR (cm⁻¹): 3414 (NH), 1742 (C=O), 1652 (C=O).

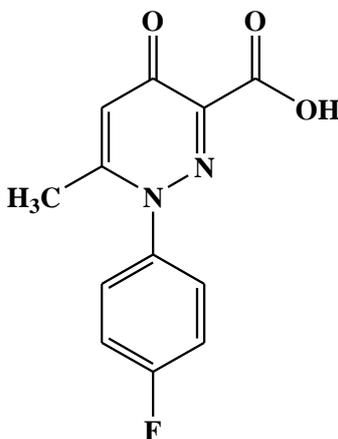
RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 7,57 (d, 2H, J = 9,0Hz, H-Ar), 7,43 (d, 2H, J = 9,0 Hz, H-Ar), 5,86 (s, 1H, =CH), 2,26 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 180,1 (CO), 165,9 (CO), 141,2 (C), 138,1 (C), 132,6 (C), 128,9 (2CH), 124,0 (C), 117,9 (2CH), 106,5 (=CH), 19,4 (CH₃).

Synthèse des acide 6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxyliques 75a-i.

Mode opératoire générale : La solution de l'hydrazone obtenu **74a-i** dans la réaction de condensation de la 2-pyrone avec les sels de diazonium est porté à reflux pendant trois heures à une température de 110°C, puis neutralisé par la suite avec une solution d'acide acétique jusqu'à pH = 7. On ajoute un peu de charbon actif et on porte le mélange réactionnel à nouveau à reflux pendant 30 min puis on filtre à chaud. Le filtrat obtenu est refroidi à 0°C et traité avec HCl concentré. Le précipité formé est filtré, lavé plusieurs fois avec de l'eau et séché pour aboutir au produit escompté **75a-i**. Les produits obtenus sont purifiés par recristallisation dans le méthanol.

Acide 1-(4-fluorophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75a)



Rdt: 68%.

PF (°C): 158-160.

IR (KBr, cm^{-1}): 3400 (OH), 1745 (C=O), 1645 (C=O).

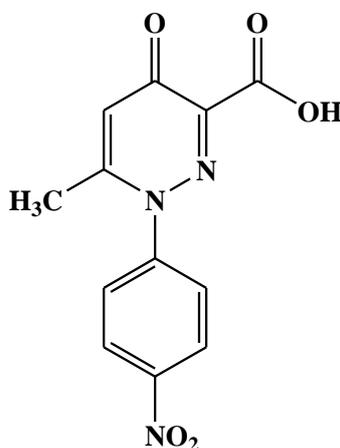
RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 15,40 (s, 1H, OH), 7,50 (d, 2H, J = 6,8 Hz, H-Ar), 7,35 (d, 2H, J = 6,8 Hz, H-Ar), 6,95 (s, 1H, CH), 2,40 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 171,1 (CO), 162,1 (CO), 155,6 (C), 144,7 (C), 142,6 (C), 141,0 (C), 128,1 (2CH), 121,7 (2CH), 120,1 (CH), 20,5 (CH₃).

SM m/z = 249 [M + 1]⁺.

Anal. Calculée pour C₁₂H₉FN₂O₃: C, 58,07; H, 3,65; N, 11,29. Trouvée: C, 57,90; H, 3,74; N, 11,10.

Acide -1-(4-nitrophényl)- 6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75b)



Rdt: 61%.

PF (°C): 255-257.

IR (KBr, cm^{-1}): 3414 (OH), 1741 (C=O), 1630 (C=O).

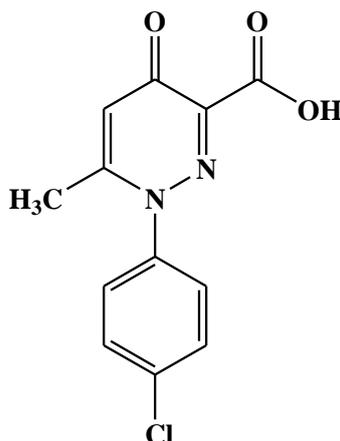
RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,45 (d, 2H, J = 9.0 Hz, H-Ar), 7,95 (d, 2H, J = 9.0 Hz, H-Ar), 7,09 (s, 1H, =CH), 2,28 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 170,6(CO), 162,6 (CO), 155,1 (C), 148,0 (C), 146,3 (C), 143,2 (C), 128,2 (2CH), 125,0 (2CH), 120,6 (CH), 20,3 (CH₃).

SM m/z = 276 [M + 1]⁺

Anal. Calculé pour C₁₂H₉N₃O₅: C, 52,37; H, 3,30; N, 15,27. Trouvée: C, 51,98; H, 3,50; N, 15,15.

Acide -1-(4-chlorophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75c)



Rdt: 57%.

PF (°C): 227- 229.

IR (KBr, cm^{-1}): 3416 (OH), 1739 (C=O acide), 1620 (C=O).

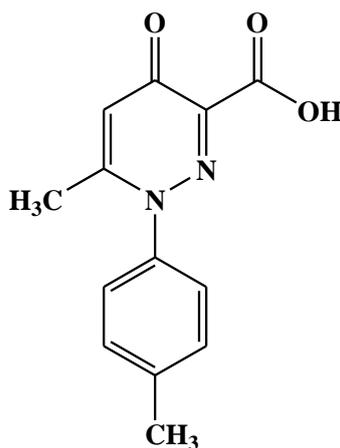
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 7,46 (d, 2H, J = 6,8 Hz, H-Ar), 7,29 (d, 2H, J= 6,8 Hz, H-Ar), 7,10 (s, 1H, =CH), 2,25 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 170,8 (CO), 162,6 (CO), 155,6 (C), 142,4 (C), 140,6 (C), 134,9 (C), 129,7 (2CH), 128,3 (2CH), 120,2 (CH), 20,4 (CH_3).

SM m/z = 265 (^{35}Cl) $[\text{M} + 1]^+$, 267 (^{37}Cl) $[\text{M} + 3]^+$.

Anal. Calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_3$: C, 54,46; H, 3,43; N, 10,58. Trouvée: C, 54,28; H, 3,54; N, 10,74.

Acide 1-(4-méthyl-phényl)-1,4-dihydro-4-oxo-6-méthyl pyridazine-3-carboxylique (75d)



Rdt: 47%.

PF (°C): 166-168.

IR (KBr, cm^{-1}): 3410 (OH), 1728 (C=O), 1630 (C=O).

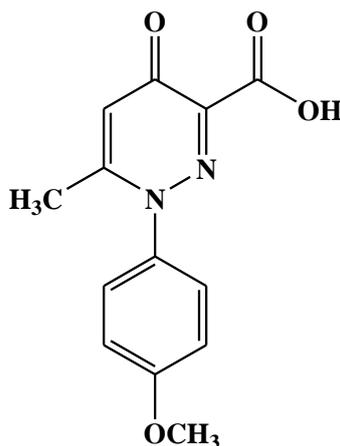
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 15,56 (s, 1H, OH), 7,33 (d, 2H, J = 9.0 Hz, H-Ar), 7,28 (d, 2H, J = 9.0 Hz, H-Ar), 6,90 (s, 1H, =CH), 2,32 (s, 3H, CH_3), 2,44 (s, 3H, CH_3Ar).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 171,9 (CO), 162,8 (CO), 155,1 (C), 141,6 (C), 141,1 (C), 139,1 (C), 130,5 (2CH), 125,7 (2CH), 121,1 (CH), 21,3 (CH₃), 18,6 (CH₃).

SM $m/z = 245 [M + 1]^+$.

Anal. Calculée pour C₁₃H₁₂N₂O₃: C, 63,93; H, 4,95; N, 11,47. Trouvée: C, 63,74; H, 4,78; N, 11,65.

Acide- 1-(4-méthoxyphényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75e)



Rdt: 45%.

PF (°C): 170-172.

IR (KBr, cm⁻¹): 3400 (OH), 1720 (C=O), 1625 (C=O).

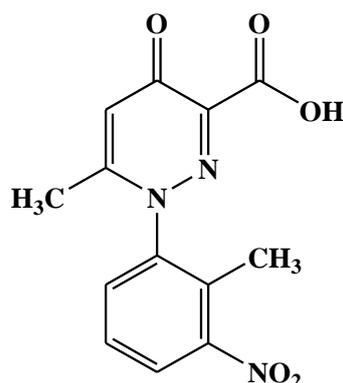
RMN¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 7,30 (d, 2H, J = 6,9 Hz, H-Ar), 7,01 (d, 2H, J=6,9 Hz, H-Ar), 6,89 (s, 1H, =CH), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 2,32 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 171,9 (CO), 162,8 (CO), 155,3 (C), 160,9 (C), 141,6 (C), 134,5 (C), 127,2 (2CH), 121,1 (CH), 114,9 (2CH), 55,8 (OCH₃), 21,3 (CH₃).

SM $m/z = 261 [M + 1]^+$.

Anal. Calculée pour C₁₃H₁₂N₂O₄: C, 60,00 ; H, 4,65 ; N, 10,76. Trouvée : C, 59,74 ; H, 4,75 ; N, 11,05.

Acide-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique(75f)



Rdt: 56 %.

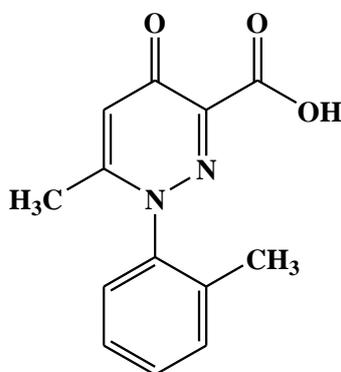
PF (°C): 164-166.

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 8,22 (dd, 1H, J = 8,2 et 1,0 Hz, H-Ar), 7,98 (dd, 1H, J = 8,0 et 1,0 Hz, H-Ar),

2,16 (s, 3H, CH₃), 7,73 (t, 1H, J = 8,0 Hz, H-Ar), 7,12 (s, 1H, =CH), 2,17 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 171,2 (CO), 163,1 (CO), 156,0 (C), 150,9 (C), 144,3 (C), 142,3 (C), 132,5 (CH), 130,3 (C), 128,9 (CH), 126,9 (CH), 120,6 (CH), 20,1 (CH₃), 13,8 (CH₃).

Acide -1-(2-méthyl-phényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75g)



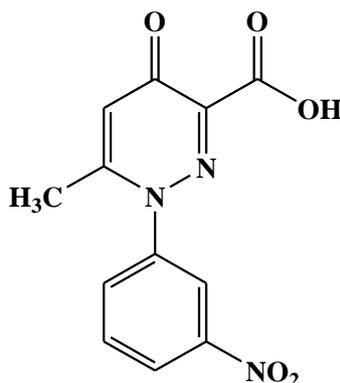
Rdt: 64%.

PF (°C): 168-170.

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 7,24-7,49 (m, 4H, H-Ar), 6,94 (s, 1H, =CH), 2,22 (s, 3H, CH₃), 2,09 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 172,0 (CO), 162,7 (CO), 155,3 (C), 142,1 (C), 140,5 (C), 134,1 (C), 132,0 (CH), 131,1 (CH), 127,7 (CH), 126,3 (CH), 121,1 (CH), 20,7 (CH₃), 17,1 (CH₃).

Acide -1-(3-nitro-phényl)- 6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (75h)



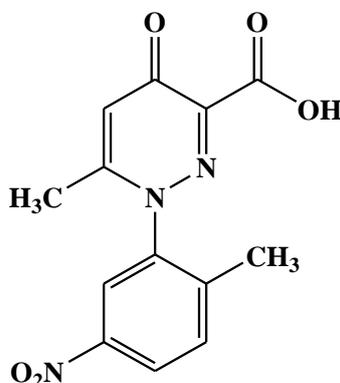
Rdt: 57%.

PF (°C): 162-164.

RMN ¹H (DMSO, 300MHz): δ 8,57 (s, H, H-Ar), 8,44 (dd, H, J = 8,1 Hz et J = 1,8, H-Ar), 8,11 (dd, 1H, J = 8,1 Hz et J = 1,8, H-Ar), 7,90 (t, 1H, J = 8,1 Hz, H-Ar), 7,09 (s, 1H, =CH), 2,25 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (DMSO, 75MHz): δ 171,3 (CO), 163,1 (CO), 156,0 (C), 148,7 (C), 143,4 (C), 142,8 (C), 133,5 (CH), 131,7 (CH), 125,5 (CH), 122,6 (CH), 120,5 (CH), 20,9 (CH₃).

Acide-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique(75i)



Rdt: 65%.

PF (°C): 166-168.

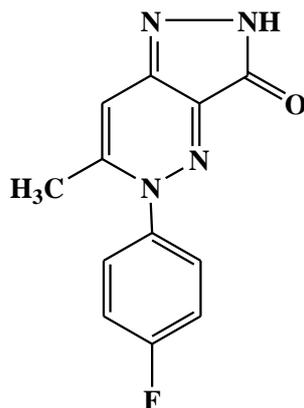
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 8,57 (d, 1H, J = 2,4 Hz, H-Ar), 8,37 (dd, 1H, J = 2,4 et 8,4 Hz, H-Ar), 7,78 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H-Ar), 7,09 (s, 1H, =CH), 2,17 (s, 3H, CH₃), 2,15 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 171,3 (CO), 163,1 (CO), 156,1 (C), 146,8 (C), 144,1 (C), 143,3 (C), 141,2 (C), 133,3 (CH), 125,7 (CH), 123,1 (CH), 120,6 (CH), 20,1 (CH₃), 17,3 (CH₃).

Synthèse des 5-(aryl)-6-méthyl-2H-pyrazolo[4,3-c]pyridazin-3(5H)-ones

Mode opératoire : Un mélange de **75** ($1,2 \cdot 10^{-3}$ mole) et de l'hydrate d'hydrazine (0,6 g, $1,2 \cdot 10^{-3}$ mole) est chauffé au reflux de l'éthanol pendant 4 heures. Après refroidissement on laisse la réaction sous agitation dans la glace, le précipité formé est filtré puis lavé par l'éther éthylique.

5-(4-Fluorophényl)-6-méthyl-2H-pyrazolo[4,3-c]pyridazin-3(5H)-one (**76a**)



Rdt: 73%

PF (°C) = 276-278

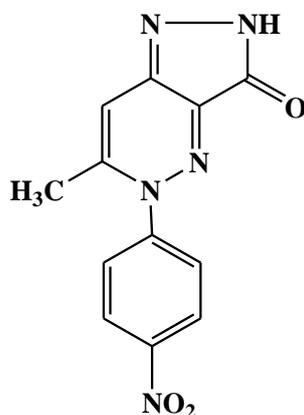
IR (cm⁻¹): 3380 (NH), 1665 (C=O), 1654 (C=N).

RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 11,90 (s, 1H, NH), 7,70 (d, 2H, J = 9,1 Hz, H-Ar), 7,31 (d, 2H, J = 9,1 Hz, H-Ar), 7,01 (s, 1H, CH), 2,17 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 164,7 (CO), 159,9 (C), 142,4 (C), 142,4 (C), 139,8 (C), 138,4 (C), 134,8 (C), 128,8 (2CH), 116,0 (2CH), 109,6 (CH), 20,0 (CH₃).

SM *m/z* = 245 [M + 1]⁺

5-(4-Nitrophényl)-6-méthyl-2H-pyrazolo[4,3-c]pyridazin-3(5H)-one (**76b**)



Rdt: 80%

PF (°C) = 288-290

IR (cm⁻¹): 3355 (NH), 1670 (C=O), 1645 (C=N).

RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 12,50 (s, 1H, NH), 8,10 (d, 2H, J = 11,5 Hz, H-Ar), 7,31 (d, 2H, J = 11,5 Hz, H-Ar), 6,52 (s, 1H, CH), 2,18 (s, 3H, CH₃).

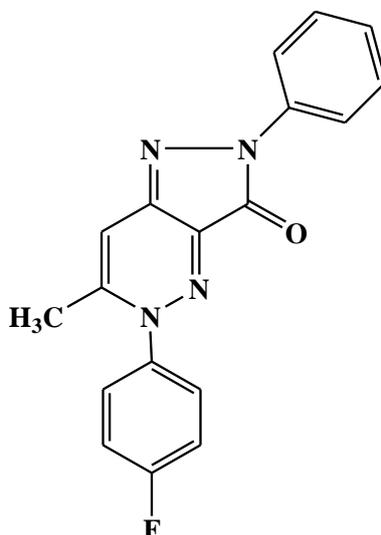
RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 165,4 (CO), 149,7 (C), 149,7 (C), 138,8 (C), 138,7 (C), 133,5 (C), 125,7 (2CH), 112,1 (2CH), 104,1 (CH), 34,7 (CH₃).

SM *m/z* = 272 [M + 1]⁺.

Synthèse de 5-(4-fluorophényl)-6-méthyl-2-phényl-2H-pyrazolo[4.3-c]pyridazin-3-(5H)-one (77)

Mode opératoire : On solubilise l'acide 1-(4-fluorophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique (0,3g, 1,2 10⁻³ mole) dans 15 mL d'éthanol puis on ajoute (0,52g, 4,8 10⁻³ mole) de phénylhydrazine. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant quatre heures. Après refroidissement, on laisse la réaction sous agitation dans la glace. Le précipité formé est filtré puis lavé avec l'éther diéthylique.

5-(4-Fluorophényl)-6-méthyl-2-phényl-2H-pyrazolo[4.3-c]pyridazin-3-(5H)-one (77)



Rdt: 64%.

PF (°C) = 214-216.

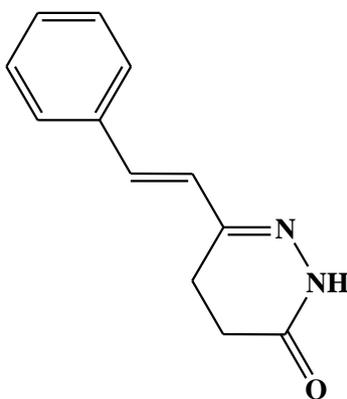
RMN¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 7,40-7,72 (m, 5H, H-Ar), 6,62-6,91 (m, 4H, H-Ar), 7,16 (s, 1H, CH), 2,17 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 161,5 (CO), 152,6 (C), 150,8 (C), 149,4 (C), 144,2 (C), 138,7 (C), 133,5 (C), 129,0 (2CH), 125,7 (2CH), 124,0 (CH), 121,1 (2CH), 112,1 (2CH), 102,6 (CH), 32,8 (CH₃).

Synthèse des 4,5-dihydropyridazin-3-ones

Mode opératoire : Un mélange de 4 mmol de l'aldéhyde, 4 mmol de l'acide levulinique, 3 gouttes de morpholine et 9 gouttes d'acide acétique est chauffé à 60°C dans le toluène pendant 12h. Après évaporation du solvant, le mélange réactionnel est refroidi puis lavé avec le mélange d'acide acétique et eau (1:4). Le précipité formé est filtré et séché pour obtenir le produit intermédiaire **80a,b**. L'intermédiaire **80** (3 mmole) dissout dans 20 ml d'acide acétique glacial et (0.5g, 10 mmol) d'hydrazine hydraté est ajouté. Le mélange est porté à reflux pendant 30 h. Après évaporation de l'acide acétique sous pression, le résidu est traité par l'eau froide. Le précipité formé est filtré, séché et purifié par chromatographie sur colonne (Acétate d'éthyle /Hexane 4/6).

6-Styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one (**81a**)



Rdt: 65%.

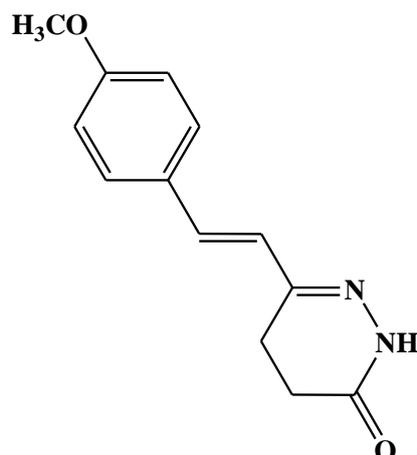
PF (°C): 160–162.

IR (KBr, cm⁻¹): 3420–3350 (NH), 1680 (CO).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 10,89 (s, 1H, NH), 7,57-7,60 (m, 2H, HAr), 7,27-7,41 (m, 3H, HAr), 7,05 (d, 1H, J = 16,6 Hz, CH=CH), 6,88 (d, 1H, J = 16,6 Hz, CH=CH), 2,78 (t, 2H, CH₂, J = 7,8 Hz), 2,42 (t, 2H, CH₂, J = 7,8 Hz).

RMN¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 167,7 (CO), 151,2 (C), 136,5 (C), 133,9 (CH-vinyl), 128,9 (CH), 129,3 (2CH), 127,4 (2CH), 126,8 (CH-vinyl), 26,3 (CH₂), 20,6 (CH₂).

6-[2-(4-Méthoxyphenyl)vinyl]-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one (81b).



Rdt: 62%.

PF (°C): 164–166°C.

IR (KBr, cm⁻¹): 3450–3350 (NH), 1685 (C=O)

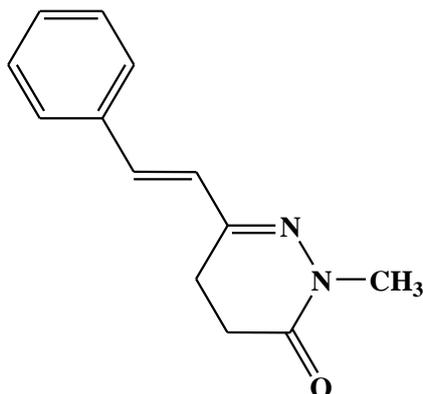
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz): δ 10,80 (s, 1H, NH), 7,50 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz), 6,98 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, CH=CH), 6,92 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz), 6,74 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, CH=CH), 3,78 (s, 3H, CH₃O), 2,75 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,6 Hz), 2,38 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,6 Hz).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz): δ 167,7 (CO), 160,1 (C), 151,4 (C), 133,6 (CH-vinyl), 129,2 (C), 128,8 (2CH), 124,6 (CH-vinyl), 114,7 (2CH), 55,6 (CH₃O), 26,4 (CH₂) 20,6 (CH₂).

Synthèse des pyridazin-3-ones *N*-alkylés 82a-c.

Mode opératoire: A une solution de (1,2g, 6,13mmol) de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one dans 30 mL de THF, on ajoute (2,50g, 18,30 mmol) de K₂CO₃ puis (7,40 mmol) de l'agent alkylant (7,40 mmol) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante jusqu'à la disparition totale de pyridazin-3-one. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le précipité brut est dissout dans le CH₂Cl₂, lavée par l'eau et la soude. La phase organique séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée puis purifiée par chromatographie sur colonne (EtOAc/Hexane 3/7).

2-Méthyl-6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one (82a)



Rdt: 85%.

PF (°C): 136-138.

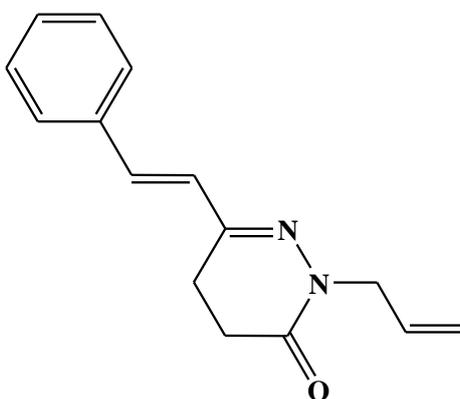
IR (KBr, cm⁻¹): 1666 (CO)

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 7,24-7,48 (m, 5H, HAr), 6,93 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, =CH), 6,84 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, =CH), 3,45 (s, 3H, NCH₃), 2,79 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,4 Hz), 2,53 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,4 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 165,8 (CO), 151,7 (C), 135,8 (C), 134,5 (CH-vinyl), 128,9 (2CH), 128,7 (CH), 127,4 (2CH), 126,8 (CH-vinyl), 36,6 (NCH₃), 26,8 (CH₂), 21,2 (CH₂).

HRMS (ESI-TOF) *m/z*: pour C₁₃H₁₅N₂O [M+H]⁺ calculée: 215,11844, trouvée: 215,11816.

2-Allyl-6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one (82b)



Rdt: 72%.

PF (°C): 178-180.

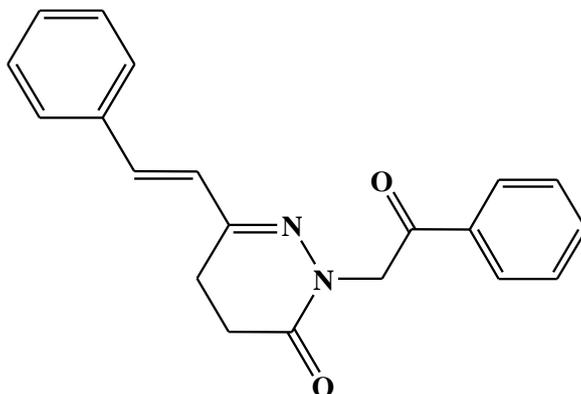
IR (KBr, cm⁻¹): 1670 (CO).

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 7,46-7,50 (m, 2H, HAr), 7,31-7,39 (m, 3H, HAr), 6,94 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, CH=CH), 6,86 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, CH=CH), 5,86-5,97 (m, 1H, =CH), 5,18-5,26 (m, 2H, =CH₂), 4,41-4,44 (m, 2H, NCH₂), 2,81 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,5 Hz), 2,57 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,5 Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz): δ 165,4 (CO), 151,9 (C), 135,8 (C), 134,4 (CH), 132,8 (CH), 128,9 (2CH), 128,4 (CH), 127,0 (2CH), 126,1 (CH), 117,0 (=CH₂), 50,9 (NCH₂), 26,9 (CH₂), 21,1 (CH₂).

HRMS (ESI-TOF) m/z : pour C₁₅H₁₇N₂O [M+H]⁺ calculée: 241,13950, trouvée: 241,13936.

2-(2-Oxo-2-phényléthyl)-6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one (82c)



Rdt: 60%.

PF (°C): 88–90.

IR (KBr, cm^{-1}): 1675 (CO), 1690 (CO).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz): δ 7,96-8,00 (m, 2H, HAr), 7,57-7,62 (m, 1H, HAr), 7,45-7,52 (m, 4H, HAr), 7,29-7,38 (m, 3H, HAr), 6,92 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, =CH), 6,85 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz, =CH), 5,25 (s, 2H, NCH₂), 2,91 (t, 2H, CH₂, $J = 7,6$ Hz), 2,67 (t, 2H, CH₂, $J = 7,6$ Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz): δ 192,9 (CO), 166,5 (CO), 152,2 (C=N), 135,8 (C), 135,0 (C), 134,6 (CH), 133,6 (CH), 128,9 (2CH), 128,7 (2CH), 128,4 (CH), 128,0 (2CH), 127,1 (2CH), 125,9 (CH), 55,2 (NCH₂), 26,6 (CH₂), 21,2 (CH₂).

HRMS (ESI-TOF) m/z : pour C₂₀H₁₉N₂O₂ [M+H]⁺ calculée : 319,14465, trouvée : 319,14438.

Chapitre II :
**Cycloaddition dipolaire 1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-
2H-pyridazin-3-one avec *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl
nitrilimine**

I- Généralités sur les dipôles 1,3

La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 a été définie comme étant un type général de réaction de cycloaddition de Huisgen [1], ou simplement réaction de Huisgen. Il s'agit d'une réaction chimique qui se produit entre un système de quatre électrons π répartis sur trois atomes appelés dipôle-1,3 et deux électrons π localisés entre deux atomes appelés dipolarophile. Les dipolarophiles sont généralement un alcène ou alcyne substitué ou un composé avec des groupes fonctionnels contenant des hétéroatomes tels que les groupes carbonyle ou nitrile, conduisant à la formation des molécules hétérocycliques à cinq éléments avec divers hétéroatomes. Le dipôle-1,3 présente une charge positive sur un hétéroatome comme atome central et une charge négative située dans les atomes terminaux.

De nos jours, les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 présentent un choix pratique pour la préparation, en une seule étape, d'une variété complexe d'hétérocycles à cinq chaînons [2]. R. Huisgen [3] a classé dix-huit dipôles-1,3: Six de type allène-propargyle linéaire (figure 1) et douze de type allyle de structure coudé (figure 2).

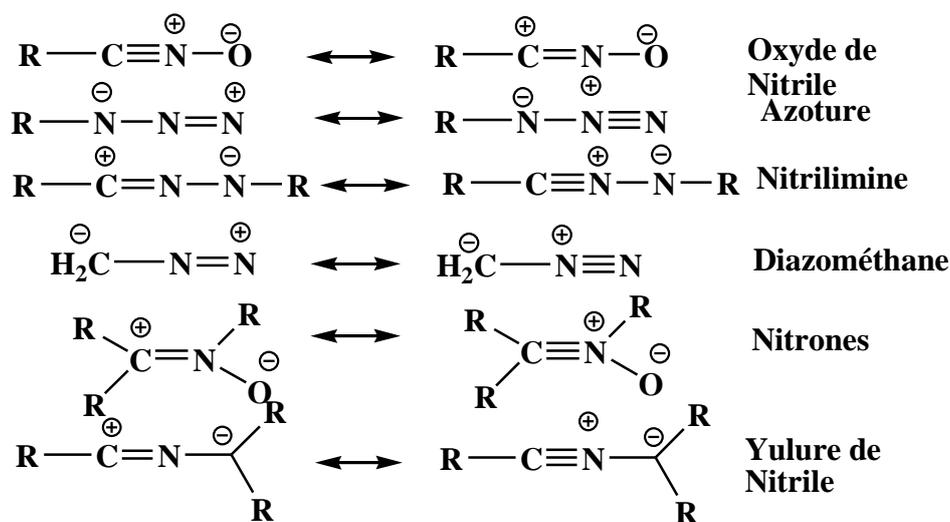


Figure 1: Dipôles 1,3 de type allène-propargyle

[1]. (a) R. Huisgen, *Proc. Chem. Soc. (London)* **1961**, 357. (b) R. Huisgen, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1963**, 2, 565. (c) R. Huisgen, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1963**, 2, 633. (d) R. Huisgen, *In 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*; A. Padwa, Ed.; Wiley: New York, **1984**; vol. 1, 1.

[2]. (a) *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*; A. Padwa, Ed.; Wiley: New York, **1984**; vol. 1 and 2. (b) M. Cinquini, F. Cozzi, *In Stereoselective Synthesis*; G. Helmchen, R. W. Hoffmann, J. Mulzer, E. Schaumam, Eds; GeorgThieme: Stuttgart, **1996**, 5, 2953. (c) A. Padwa, *In Comprehensive Organic Synthesis*; B. M. Trost, I. Fleming, Eds.; Pergamon: Oxford, **1991**, 4, 1069. (d) P. A. Wade, *In Comprehensive Organic Synthesis*; B. M. Trost, I. Fleming, Eds.; Pergamon: Oxford, **1991**, 4, 1111, (e) K. B. G. Torssell, *Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis*; VCH: New York, **1988**. (f) K. V. Gothelf, K. A. Jorgensen. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 865.

[3]. R. Huisgen. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 403.

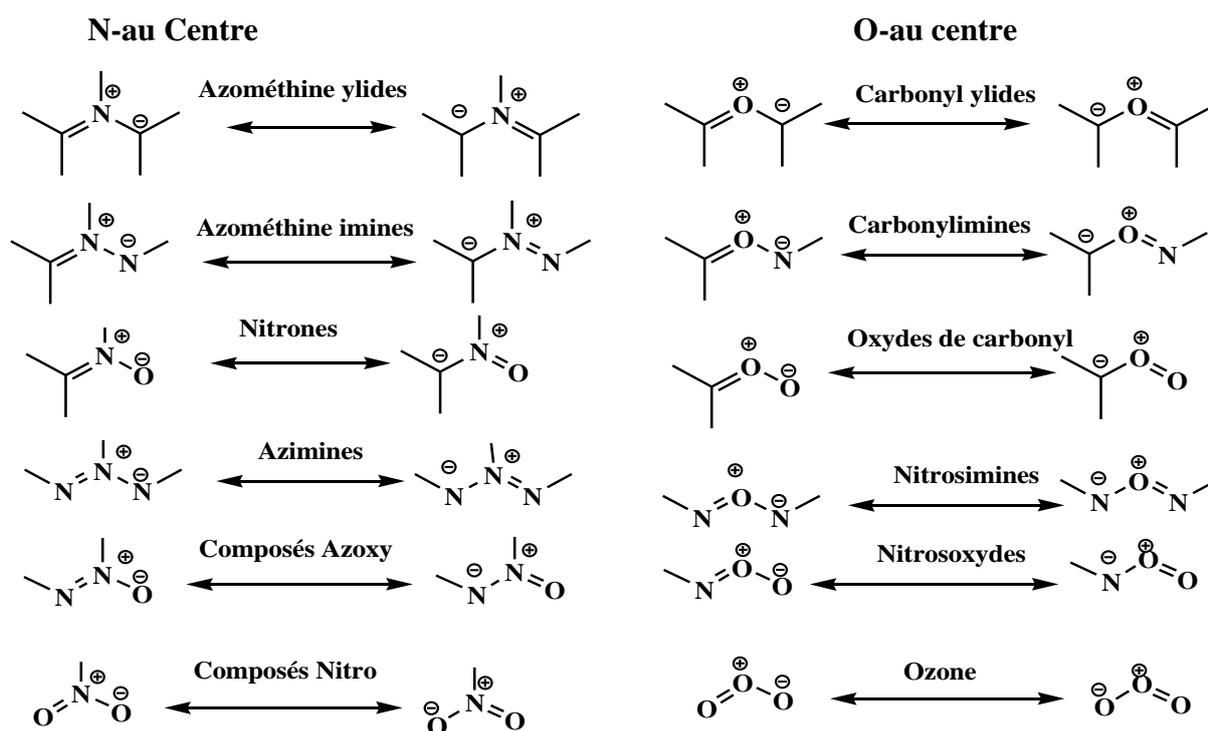


Figure 2: Dipôles 1,3 de type allyle

Généralement, les réactions de cycloaddition-1,3 dipolaire sont des réactions concertées et sont contrôlées par l'interaction HOMO (dipôle)-LUMO (dipolarophile) et d'autres par l'interaction (LUMO) dipôle -HOMO (dipolarophile).

I-1- Les Nitrilimines (*N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines)

Les Nitrilimines sont considérés parmi les dipôles-1,3 les plus utiles et largement utilisés en synthèse organique pour la construction des hétérocycles à cinq chaînons via les réactions de cycloaddition dipolaire 1,3. Les *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines (figure 3) sont les dipôles les plus couramment utilisés en raison de leur stabilité et de leur accessibilité facile à partir de différents précurseurs.

Outre l'intérêt synthétique, les *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines sont des intermédiaires clés dans la synthèse de nombreuses molécules hétérocycliques à caractère pharmacologique potentielle.

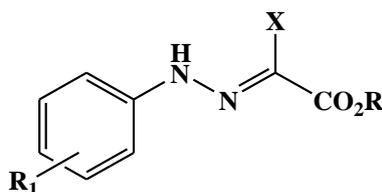


Figure 3 : Dipôle de *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimine

C'est dans cet objectif que nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à l'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Nous étudierons éventuellement la régiosélectivité et la pérélectivité de la réaction car la pyridazin-3(2*H*)-one **1** possède trois sites dipolarophiles potentiels : les doubles liaisons carbone-carbone, carbone-azote et carbone-oxygène.

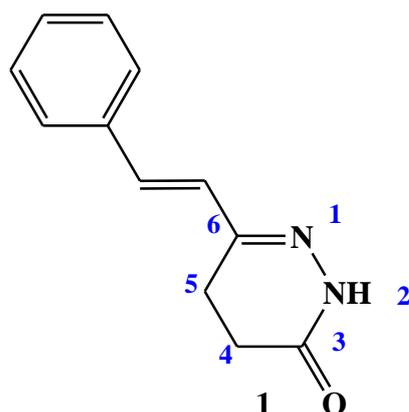


Figure 4: 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one

Avant de présenter nos résultats expérimentaux nous donnons un aperçu bibliographique sur la synthèse des cycloadduits issus des réactions de cycloaddition de *N*-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines avec différents sites dipolarophiles.

Ainsi, D. Prajapati [4] a effectué la condensation de C-acétyl nitrilimine avec l'imine de l'isatin **2**. Il a pu obtenir un seul cycloadduit de type spiro-[3*H*-indole-triazolin]-2-ones **3**, issus de l'addition du dipôle sur la double liaison carbone-azote (Schéma 1). La double liaison carbone-oxygène n'a pas été affectée. La réaction est à la fois péri et régiosélective.

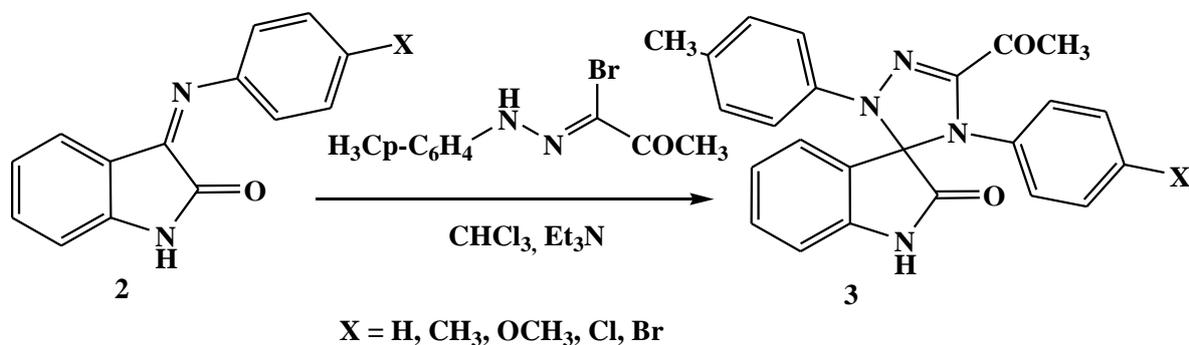


Schéma 1

[4]. D. Prajapati, S. Gadhawal., *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4909.

Molteni et coll. [5] ont étudié la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 entre la *C*-méthoxycarbonyl-*N*-arylnitrilimine et l'énantiomère *N*-(1-phényléthyl)-1-arylméthanimine **4** à reflux du toluène et en présence d'un léger excès de la triéthylamine. Ils ont isolé deux diastérisomères de structure 5-aryl-4,5-dihydro-1,2,4-triazoles **5** et **6** issues d'une addition régiosélective du dipôle-1,3 sur la double liaison C=N (Schéma 2).

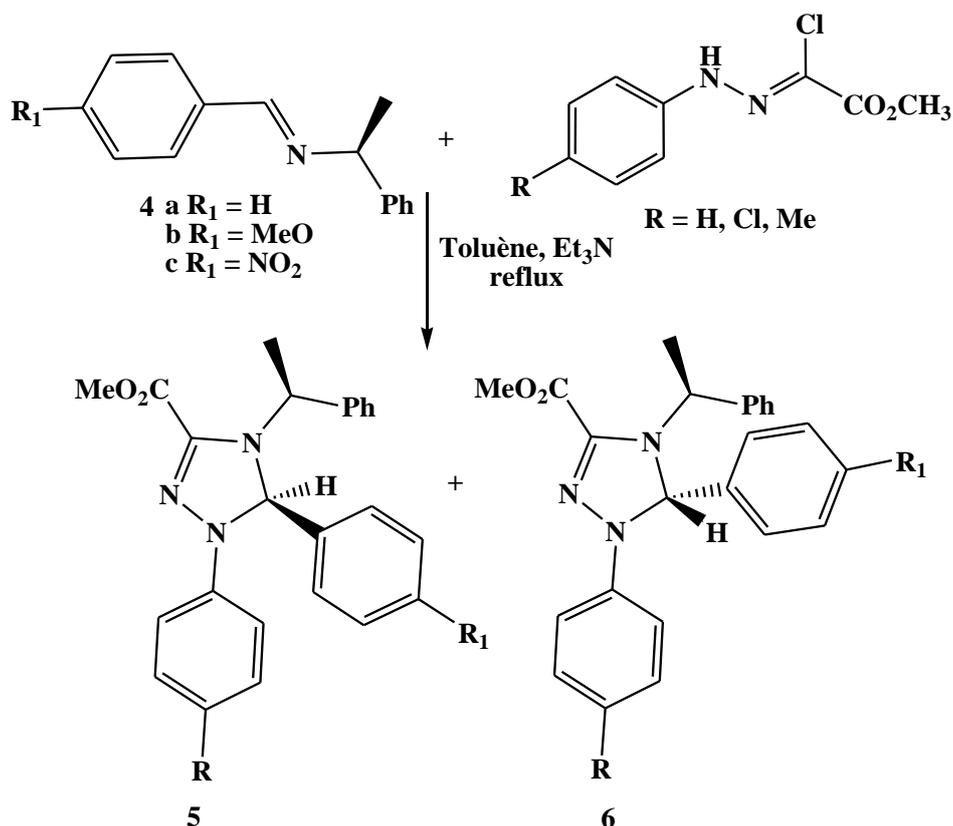


Schéma 2

Pour leur part, Dalloul et coll. [6] ont synthétisé les spiro-triazoles **8** à partir de la cycloaddition dipolaire-1,3 des nitrilimines avec les benzoylhydrazones **7**. La double liaison C=N est réactive vis-à-vis des dipôles de nitrilimines (Schéma 3).

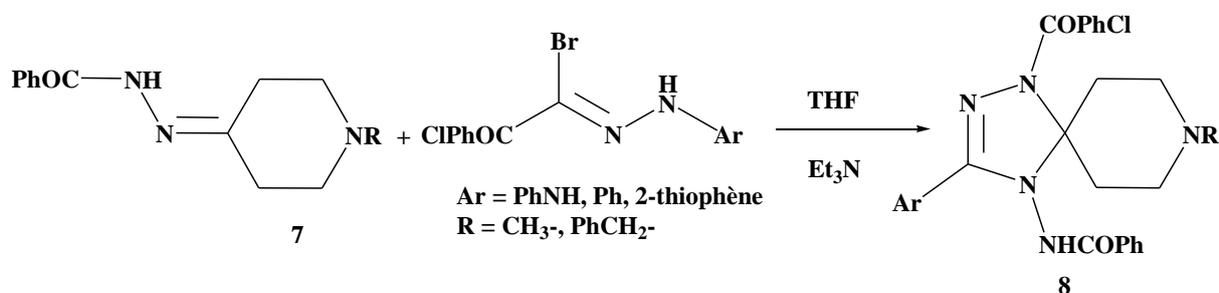


Schéma 3

[5]. G. Molteni, A. Ponti, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3711.
 [6]. H. M. Dalloul, P. H. Boyle, *Turk J. Chem*, **2006**, 30, 119.

Dans la série des benzodiazépines, Molteni et coll. [7] ont décrit la synthèse d'un mélange diastéréoisomère de [1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazépinones issu de l'addition du dipôle-1,3 régénéré in situ sur la 1,4-benzodiazépin-4-one **9** (Schéma 4).

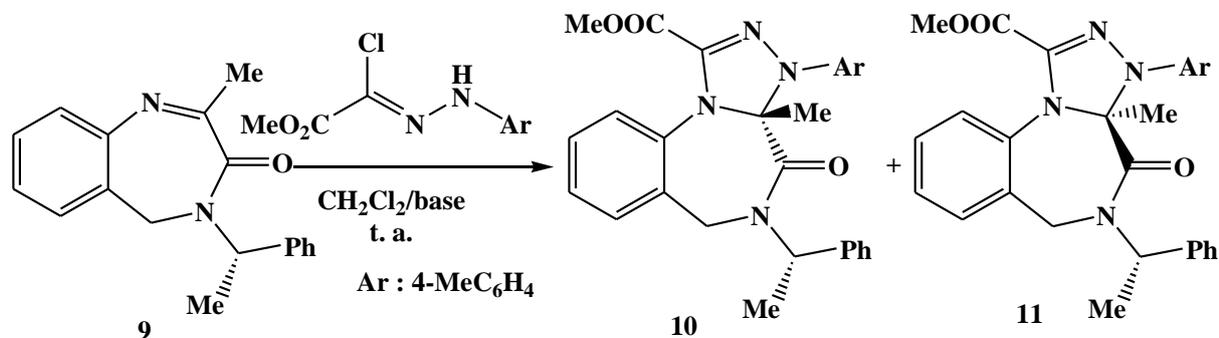


Schéma 4

En 2003, Philippe Compain et coll. [8] ont étudié la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 entre 2,4-diméthyl-3H-1,5-benzodiazépines et les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines dans le benzène à température ambiante. Ils ont obtenu des bis[1,2,4-triazolo][4,3-*a*:3',4'-*d*][1,5]benzodiazépines avec de bon rendements (Schéma 5). La réaction est régiosélective.

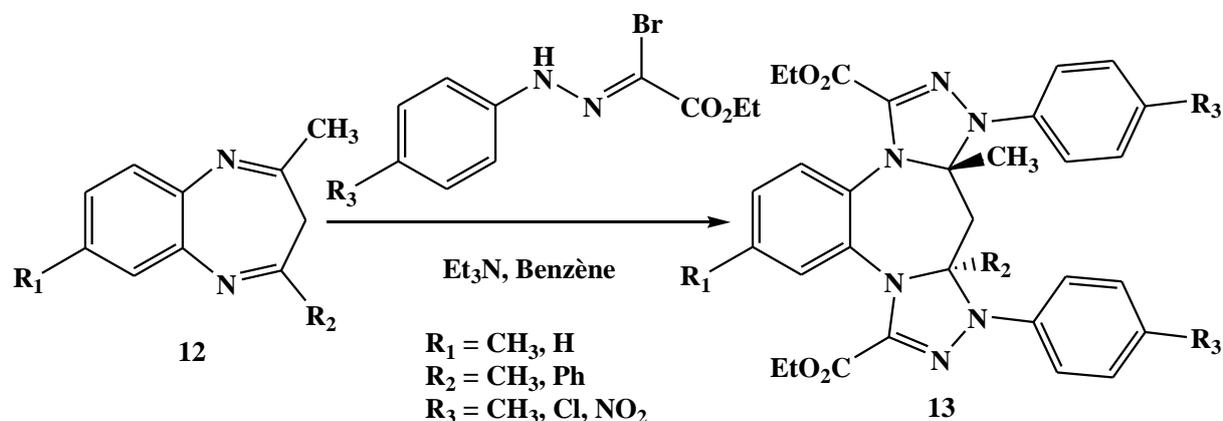


Schéma 5

Le même groupe [9] a développé aussi la synthèse des [1,2,4]triazolo[1,3,4]-benzotriazépines **15** via la réaction de condensation des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines avec les 3,4-dihydro-4-méthyl-5H-1,3,4-benzotriazépin-5-ones **14** (Schéma 6). La réaction est péri- et régiosélective.

[7]. G. Molteni, G. Brogini, T. Pilati. *Tetrahedron Asym.* **2002**, 13, 2491.

[8]. K. Nabih, A. Baouid, A. Hasnaoui, M. Selktib, P. Compain. *New J. Chem.*, **2003**, 27, 1644.

[9]. R. Jalal, M. El Messaoudi, A. Hasnaoui, M. Esseffar, M. Selkti, J-P. Lavergne, P. Compain. *New J. Chem.*, **2002**, 26, 1545.

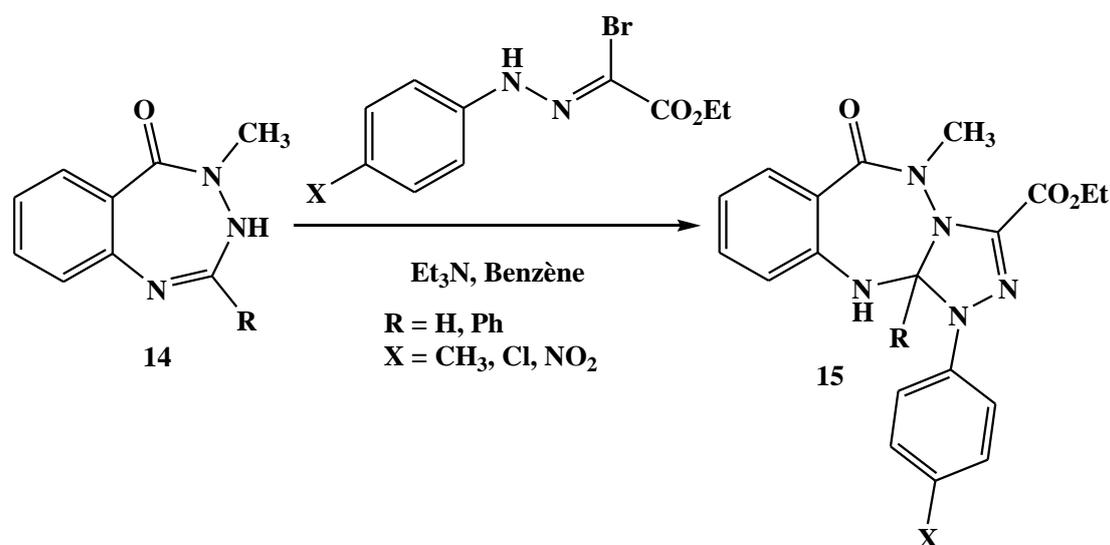


Schéma 6

Des travaux de recherche récents [10] ont été réalisés dans le but d'étudier la réactivité de la quinoxaline **16** vis-à-vis de différents nitrilimines régénérés in situ à partir du chlorure d'hydrazonoyle. Cette réaction a permis d'accéder aux bis-cycloadduits **17** issus de l'addition du dipôle sur la double liaison C=N (Schéma 7).

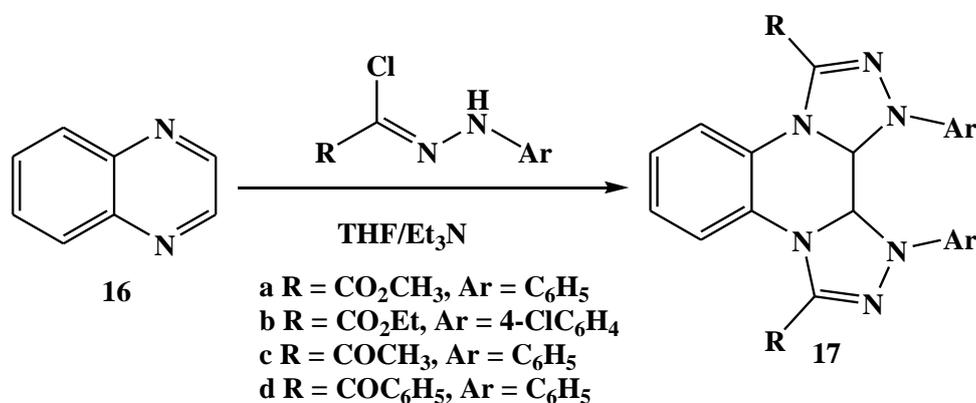
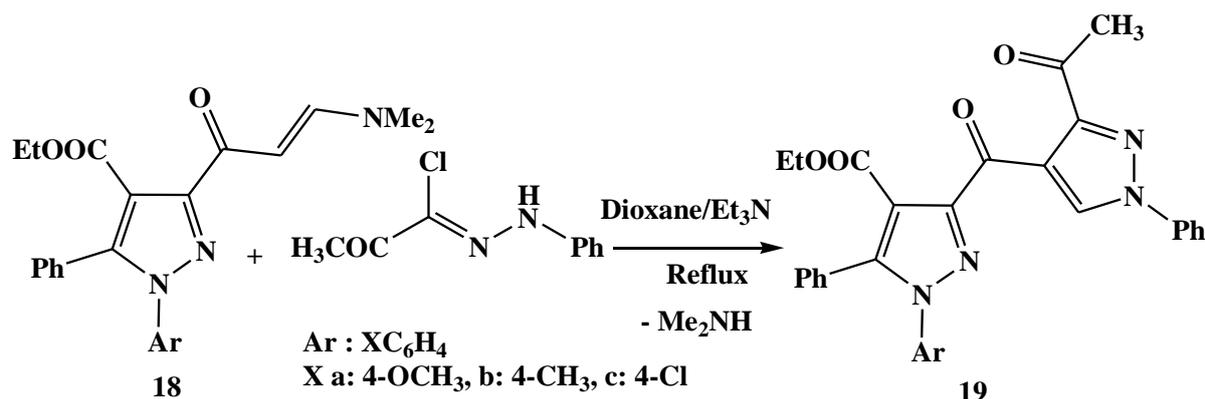


Schéma 7

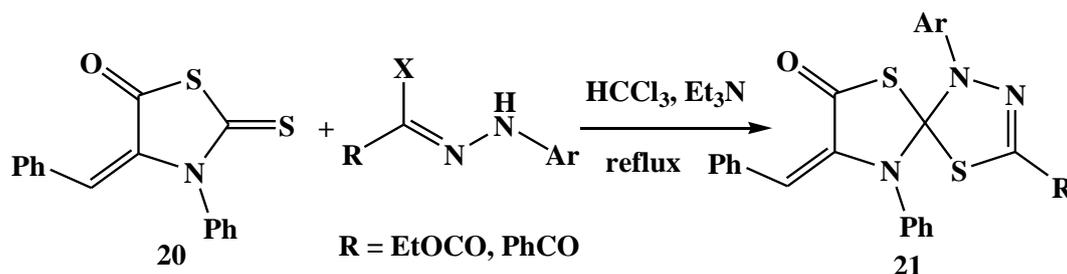
En 2009, Shawali et coll. [11] ont décrit la synthèse de 3,4'-bis(pyrazolyl)cétones **19** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des énamines pyrazoliques **18** avec la nitrilimine générée in situ par déshydrochloration du chlorure de *N*-phényl-2-oxopropane hydrazonoyle (Schéma 8). Cette réaction est régiosélective. Un seul cycloadduit a été identifié.

[10]. A. Lauria, A. Guarcello, G. Macaluso, G. Dattolo, A. M. Almerico. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 7333.

[11]. A. S. Shawali, T. A. Farghaly, A. R. Al-Dahshoury. *ARKIVOC* **2009**, xiv, 88.



Les dérivés spiro[3*H*-thiazole-2,2'-3*H*-thiadiazoles] **21** ont été synthétisés par réaction de la 3-phényl-4-(2-phénylméthylène)-thioxothiazolin-5-one **20** avec les *N*-aryl-*C*-éthoxy carbonylnitrilimines, générés in situ par action de la triéthylamine sur les halogénures d'hydrazonoyles à reflux du chloroforme (Schéma 9) [12]. Dans ce cas, la double liaison C=S semble être un site dipolarophile plus réactif que la double liaison C=C.



Un résultat analogue [13] a été observé aussi lors de la réaction de condensation de 5-phénylméthylène-1,3-diphényl-5-oxo-2-thioxo-tétrahydroimidazole **22** avec les halogénures d'hydrazonoyles dans le chloroforme en présence de la triéthylamine. Les spiro[5*H*-pyrazolo-4,4'-imidazoles] **23** sont obtenus avec de bon rendement (78-80%) (Schéma 10). Dans ce cas, la double liaison exocyclique C=C est plus réactive que la double liaison thioxo C=S. La réaction est régiosélective.

[12]. N. M. Elwan, H. A. Abdelhadi. *Zagazig. J. Pharm. Sci.* **1995**, 4, 205.

[13]. H. M. Hassaneen, H. A. Daboun, H. A. Abdelhadi, N. A. Abdel-Reheem. *Phosphorus, Sulfur & Silicon* **1995**, 107, 269.

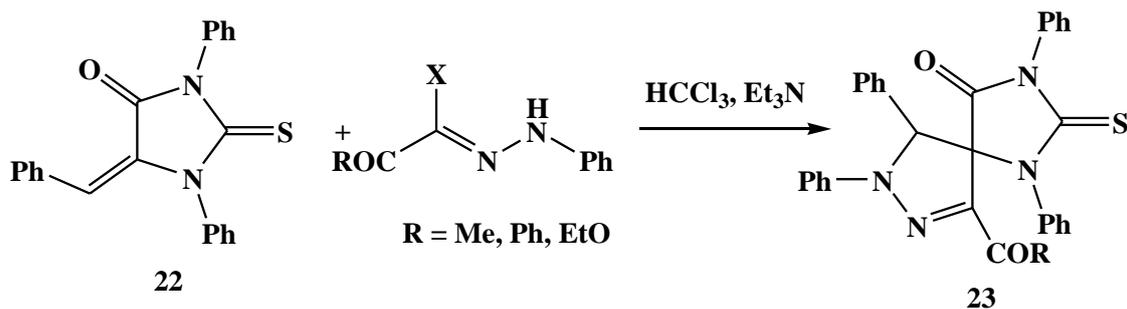


Schéma 10

En série pyridazinone, Rakib et coll. [14] ont étudié la réaction de condensation mole à mole des pyridazine-3(2H)-ones **24** avec les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines à température ambiante dans le tétrahydrofurane et en présence de la triéthylamine. Cette réaction a conduit dans tous les cas à un seul régioisomère de type triazolopyridazinones **25**, résultant d'une addition sur la double liaison carbone-azote (Schéma 11). Aucun adduit issu d'une condensation sur la double liaison C=O n'a été identifié. La réaction est totalement périsélective.

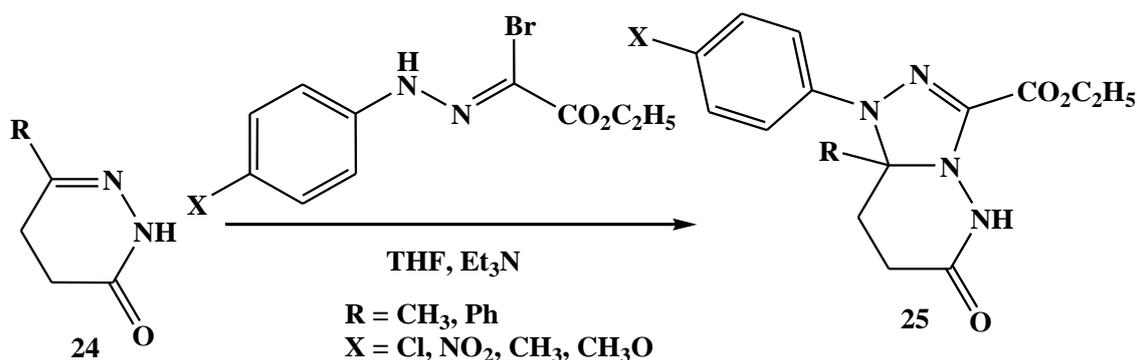


Schéma 11

Récemment, l'équipe de Rakib [15] a étudié aussi la réaction de cycloaddition de pyridazin-3(2H)-thione **26** avec les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines à reflux de tétrahydrofurane en présence de la triéthylamine pendant des temps variés. Cette réaction a conduit à un seul produit de type spirothiadiazolopyridazines **27** résultant d'une addition des dipôles-1,3 sur la double liaison exocyclique thioxo (Schéma 12). Aucun adduit issu d'une condensation sur le site dipolarophile carbone-azote n'a été observé. La réaction est exclusivement péri- et régiosélective.

[14]. S. Abouricha, E.M. Rakib, A. Hannioui, N. Benchat, L. Ait M'barek, A. Zyad. *J. Iran. Chem. Soc.*, **2006**, vol 3, 272.

[15]. H. Sekkak, S. Mojahidi, E. M. Rakib, S. Abouricha, A. Kerbal, M. Viale. *Letters in Drug Design & Discovery*, **2010**, 7 (10), 743.

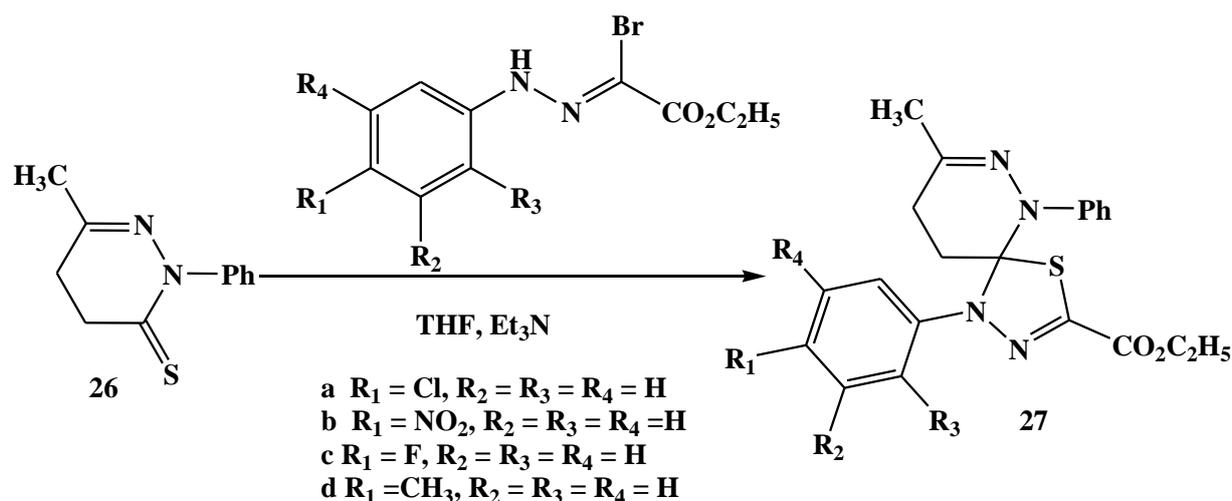


Schéma 12

Ces données bibliographiques montrent bien que les sites dipolarophiles C=C, C=N et C=S jouent un rôle très important dans les réactions de cycloaddition dipolaire 1,3. Ils réagissent aisément avec les N-aryl-C-alkoxycarbonylnitrilimines pour préparer de nouveaux systèmes hétérocycliques de structure pyrazoliques, triazoliques et thiazoliques.

Elles montrent également que la présence de plusieurs sites dipolarophiles dans la molécule joue un rôle très important dans le choix du site dipolarophile (périsélectivité) et que l'orientation de l'addition dépend à la fois de la nature du dipole utilisé et du site dipolarophile engagé dans la condensation (régiosélectivité).

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à l'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis des N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Nous étudierons éventuellement la péri et la régiosélectivité de la réaction.

Au cours de ce travail, nous présentons dans un premier temps, l'élaboration des dipôles-1,3 de N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines ensuite la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **1** avec les dipôles-1,3 synthétisés.

II- Elaboration des dipôles-1,3

II-1- Synthèse des précurseurs N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines

Les dipôles que nous avons préparé et qui ont fait l'objet de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 avec les dérivés de la pyridazinone ainsi que la porphyrine (deuxième partie de cette thèse) sont regroupés dans la figure suivante :

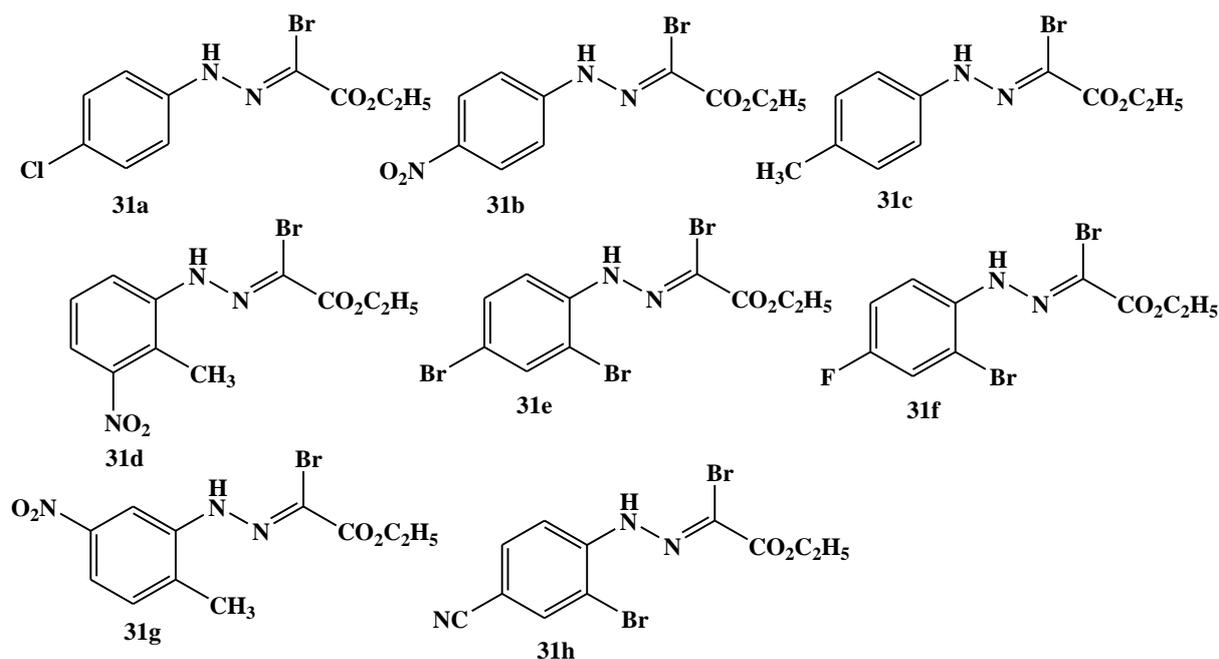


Figure 5: Structures des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **31a-h**

La méthode que nous avons utilisée pour préparer les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **31a-h** est celle de Hamilton [16]. C'est une méthode simple qui donne de bons rendements par rapport aux autres méthodes décrites par Bowack [17] et Huisgen [18].

Cette méthode consiste à préparer ces composés à partir des sels de diazonium de l'aniline **28a-h** substitués en différentes positions par des groupements donneurs ou attracteurs d'électrons (X = Cl, F, NO₂, CH₃, CN) et de l'acétylacétate d'éthyle **29** en présence d'une base telle que l'acétate de sodium à température ambiante. L'hydrazone **30a-h** obtenue est ensuite traitée par le brome en présence d'acétate de sodium dans l'acide acétique pour obtenir les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **31a-h** (Schéma 13).

[16]. B. Sharp, C.S. Hamilton. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 588

[17]. D. A. Bowak, A. Lapwerth. *J. Chem. Soc.* **1905**, 87, 1859.

[18]. R. Huisgen, H. J. Koch. *J. Chem. Soc.* **1955**, 591, 200.

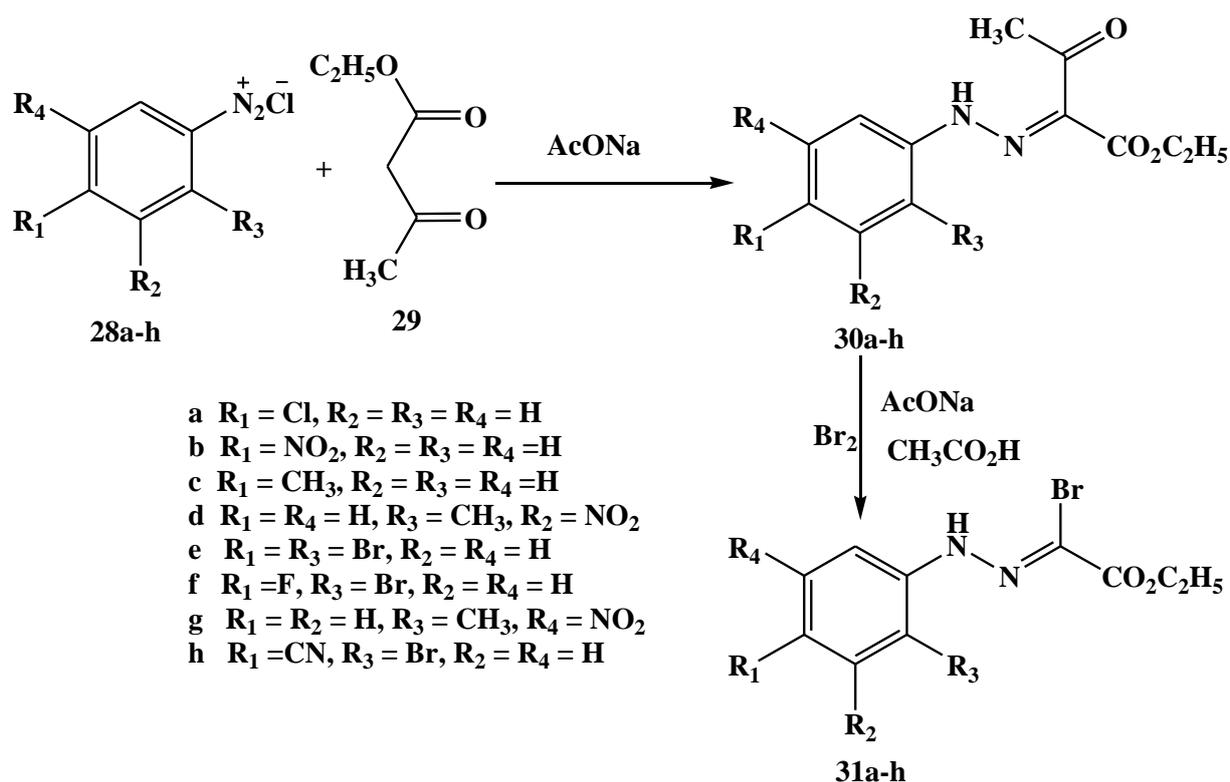


Schéma 13

Les caractéristiques physico-chimiques de quelques dipôles sont analogues à celles décrites par Sharp et Hamilton (tableaux 1 et 2). D'autres dipôles sont identifiés en plus des caractéristiques physicochimiques par les données spectroscopiques de la RMN¹H et RMN¹³C.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des hydrazones **30a-h**

Composés	PF (°C)	Rdt %	Aspect
30a	82-84	82	Cristaux jaunes
30b	125-127	90	Aiguilles jaunes
30c	78-80	81	Cristaux jaunes
30d	84-86	70	Poudre brune
30e	108-110	92	Cristaux jaunes
30f	88-90	70	Cristaux jaunes
30g	144-146	85	Cristaux jaunes
30h	122-124	78	Cristaux jaunes

Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques des *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines **31a-h**:

Composés	PF (°C)	Rdt%	Aspect
31a	130-132	60	Cristaux jaunes
31b	204-206	65	Cristaux jaunes
31c	98-100	56	Cristaux jaunes
31d	112-114	50	Poudre brune
31e	120-122	72	Aiguille jaunes
31f	96-98	56	Cristaux jaunes
31g	150-152	68	Cristaux jaunes
31h	138-140	60	Cristaux jaunes

Dans les figures ci-dessous, nous présentons un exemple des spectres RMN¹H, RMN¹³C et DEPT du dipôle **31e**.

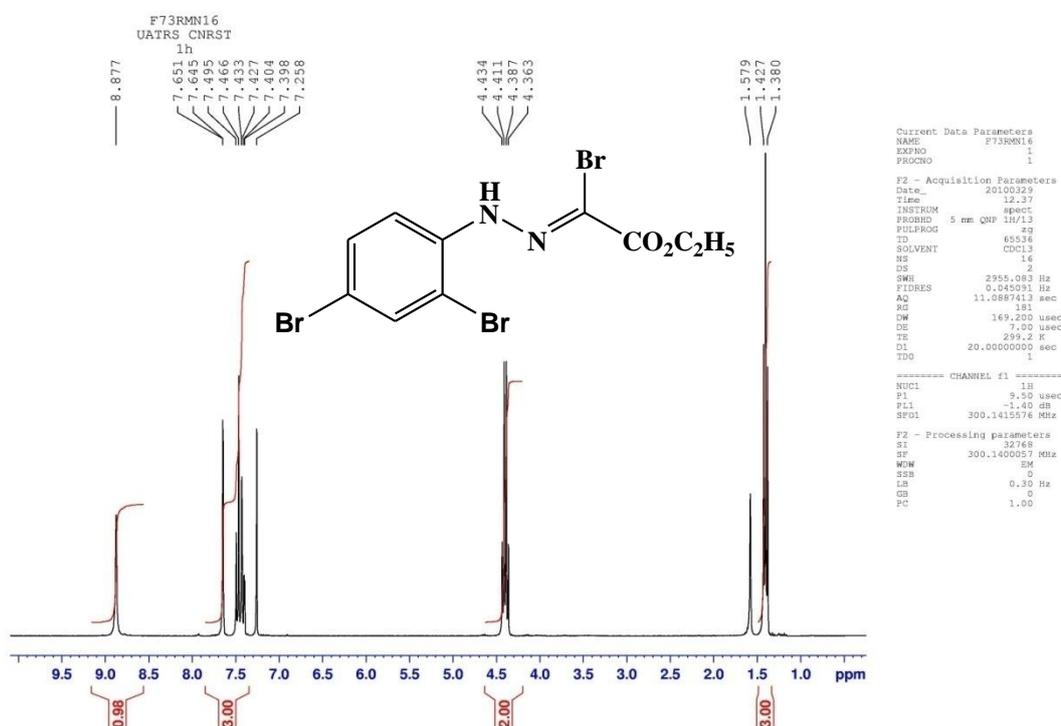


Figure 6: Spectre RMN¹H (300MHz, CDCl₃) du composé **31e**

Cycloaddition dipolaire-1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one avec N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimine

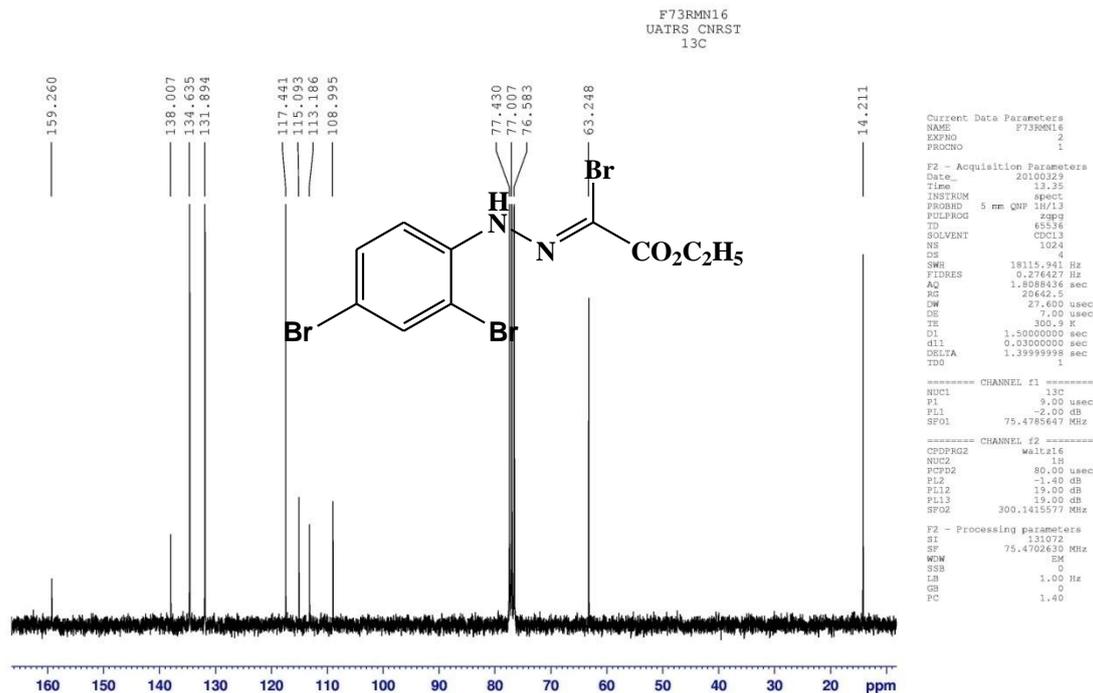


Figure 7: Spectre RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) du composé **31e**

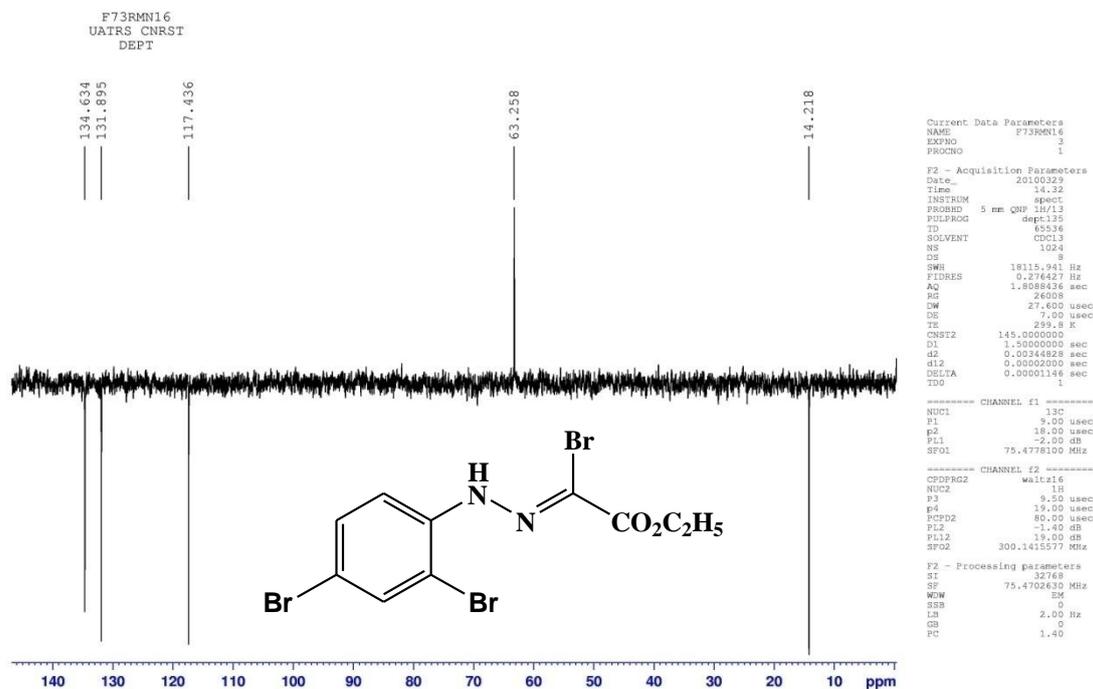


Figure 8: Spectre RMN¹³C (DEPT) du composé **31e**

III- Cycloaddition dipolaire 1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one

La condensation mole à mole de la pyridazine-3(2H)-one **1** avec les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **31a-e** dans le tétrahydrofurane en présence de K₂CO₃, conduit dans tous les cas à un seul régioisomère de type triazolopyridazinones **32a-e** résultant d'une addition sur la double liaison carbone-azote (Schéma 14). Aucun adduit issu d'une condensation sur les doubles liaisons carbone-oxygène et/ou carbone-carbone n'a été identifié. La réaction est péri- et régiosélective.

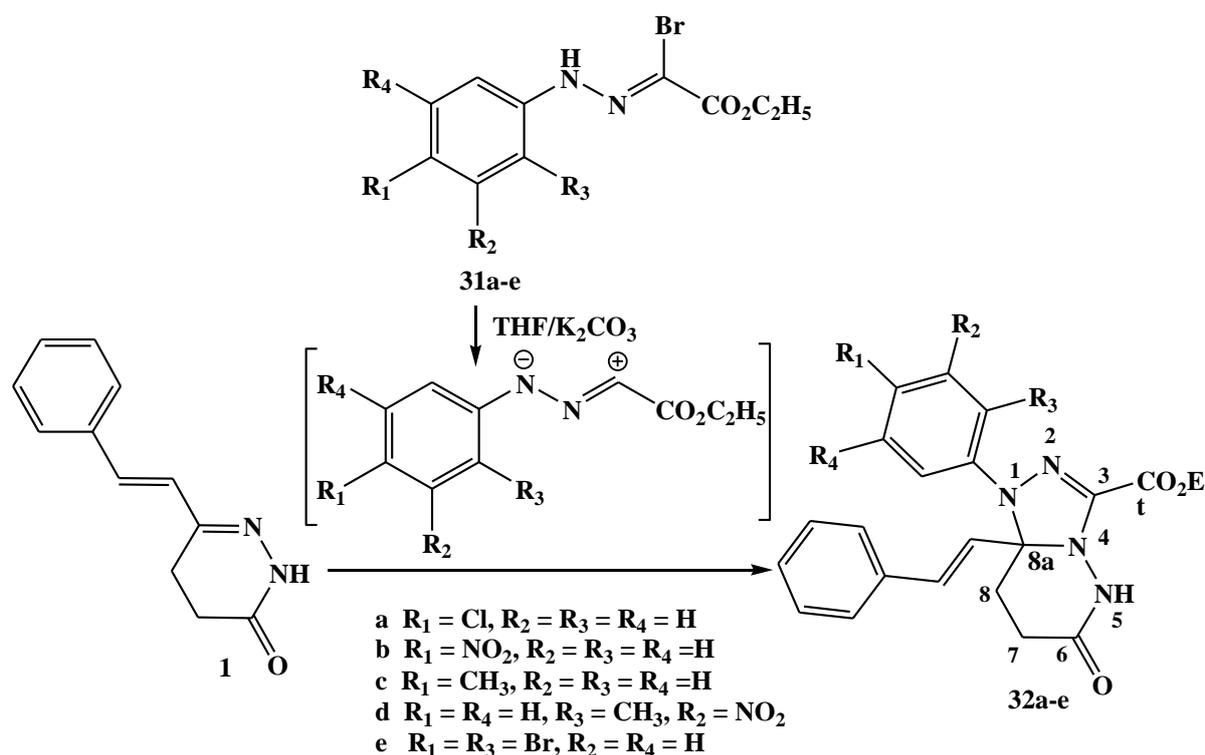


Schéma 14

Les structures des triazolo[4,3-*b*]pyridazinones **32a-e** ont été caractérisées par les analyses spectrales RMN¹H, RMN¹³C, DEPT et spectrométrie de masse.

Le spectre RMN¹H des composés **32a-e** montre en particulier la présence de deux doublets entre 6,15-6,49 ppm et 6,79-6,86 ppm correspondant aux portons vinylique de la double liaison CH=CH avec une constante de couplage de 16.1-16.5Hz. Ceci exclut l'addition des dipôles-1,3 sur la double liaison CH=CH.

Dans le spectre RMN¹³C des cycloadduits **32a-e**, la présence d'un signal à 157.8-158.5 ppm dû au carbone du groupe carbonyle C=O de la fonction amide écarte toute addition du dipôle sur la double liaison C=O. Ces résultats confirment bien que l'addition du dipôle-1,3 s'effectue préférentiellement sur la double liaison C=N. La réaction est péréselective.

La direction de l'addition peut être déduite à partir du spectre RMN¹³C : le carbone quaternaire C-8a qui apparaît à 85.9-89.6 ppm exclut complètement le sens d'addition inverse sur la double carbone-azote. La réaction est donc régiosélective.

En spectroscopie de masse **Tof-ES⁺** du composé **32c**, On note la présence du pic de l'ion moléculaire d'intensité 100% à m/z= 405,2 (Figure 6) et une fragmentation principale liée à l'élimination d'aryldiazonium du dipôle 1,3.

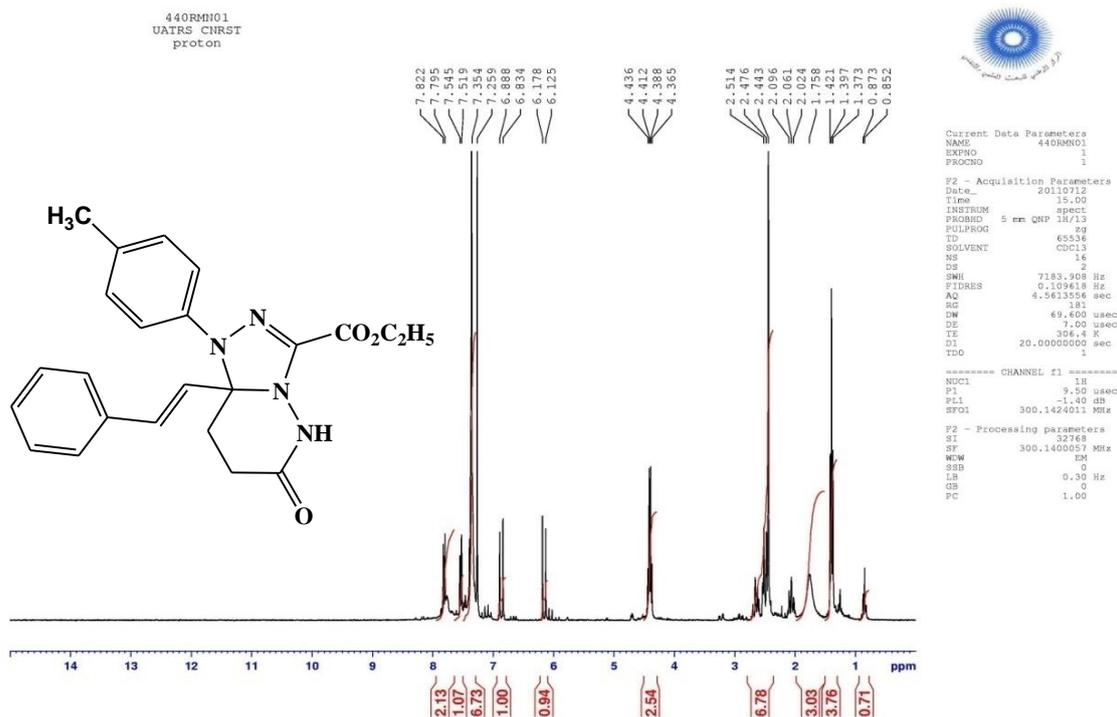


Figure 9 : Spectre RMN¹H du cycloadduit **32c**

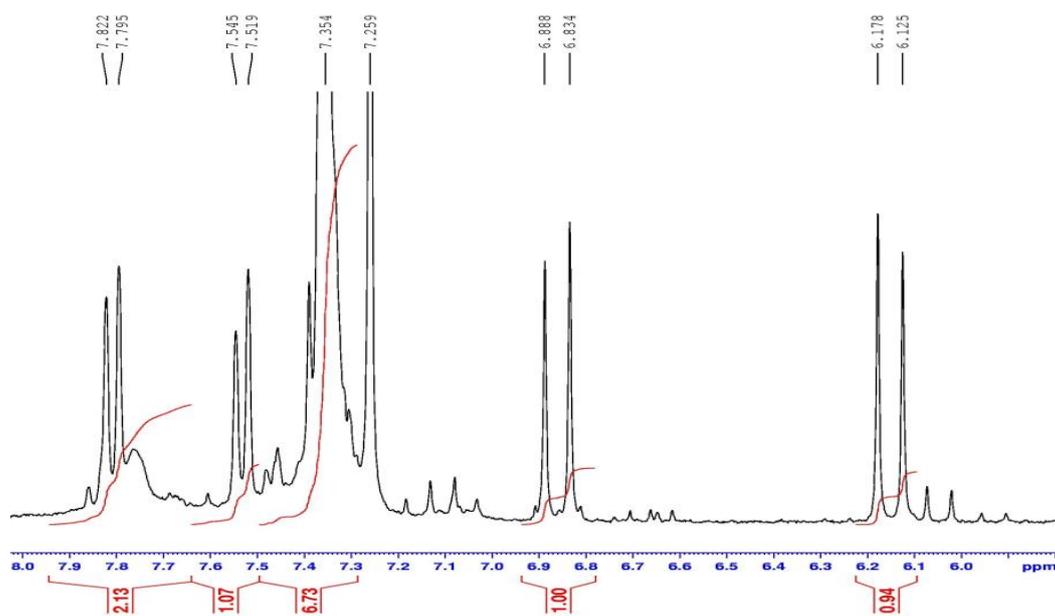


Figure 10: Spectre RMN¹H étalé de la zone aromatique du cycloadduit **32c**

Cycloaddition dipolaire-1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one avec N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimine

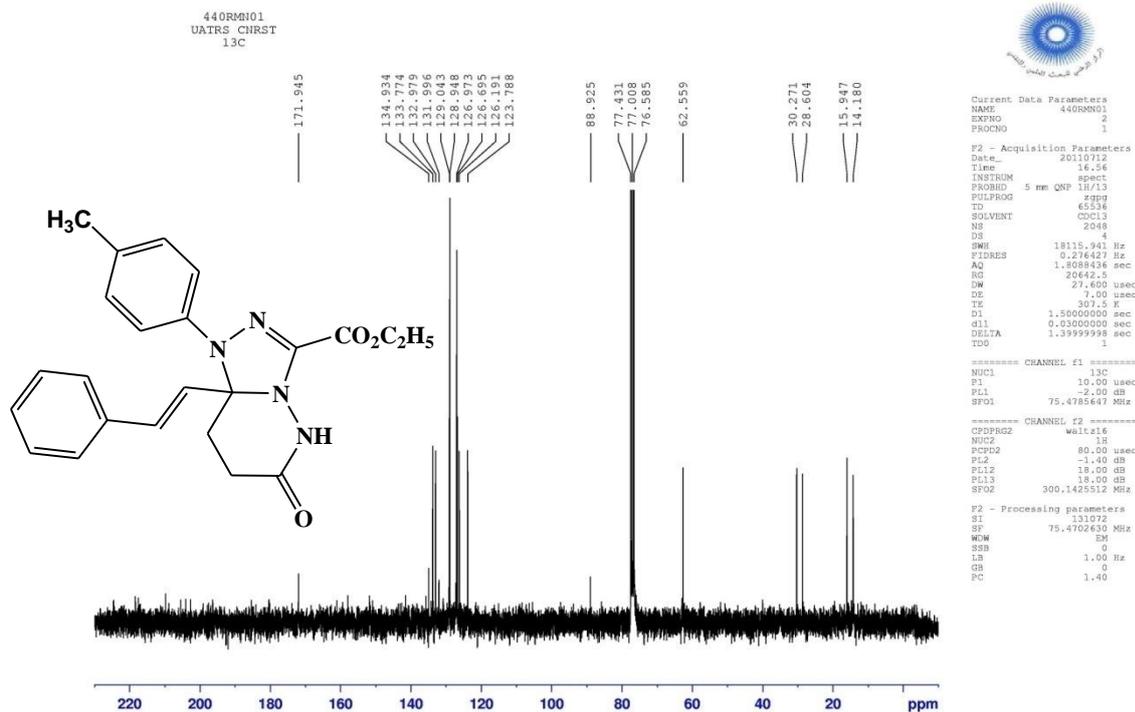


Figure 11: Spectre RMN¹³C du cycloadduit 32c

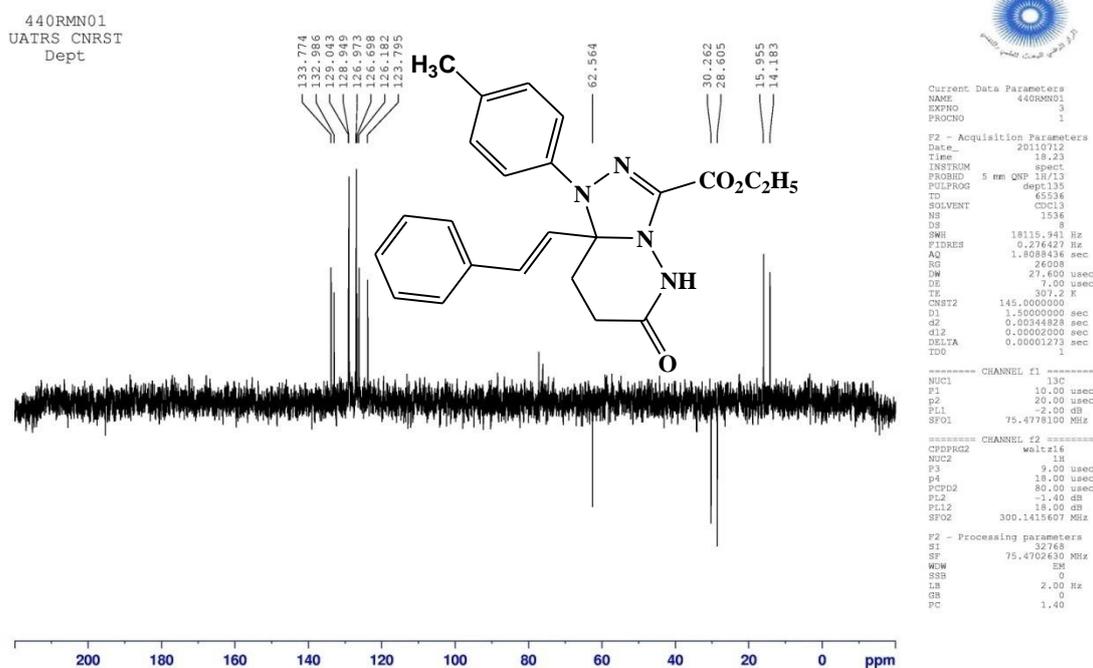


Figure 12: Spectre RMN¹³C (DEPT) du cycloadduit 32c

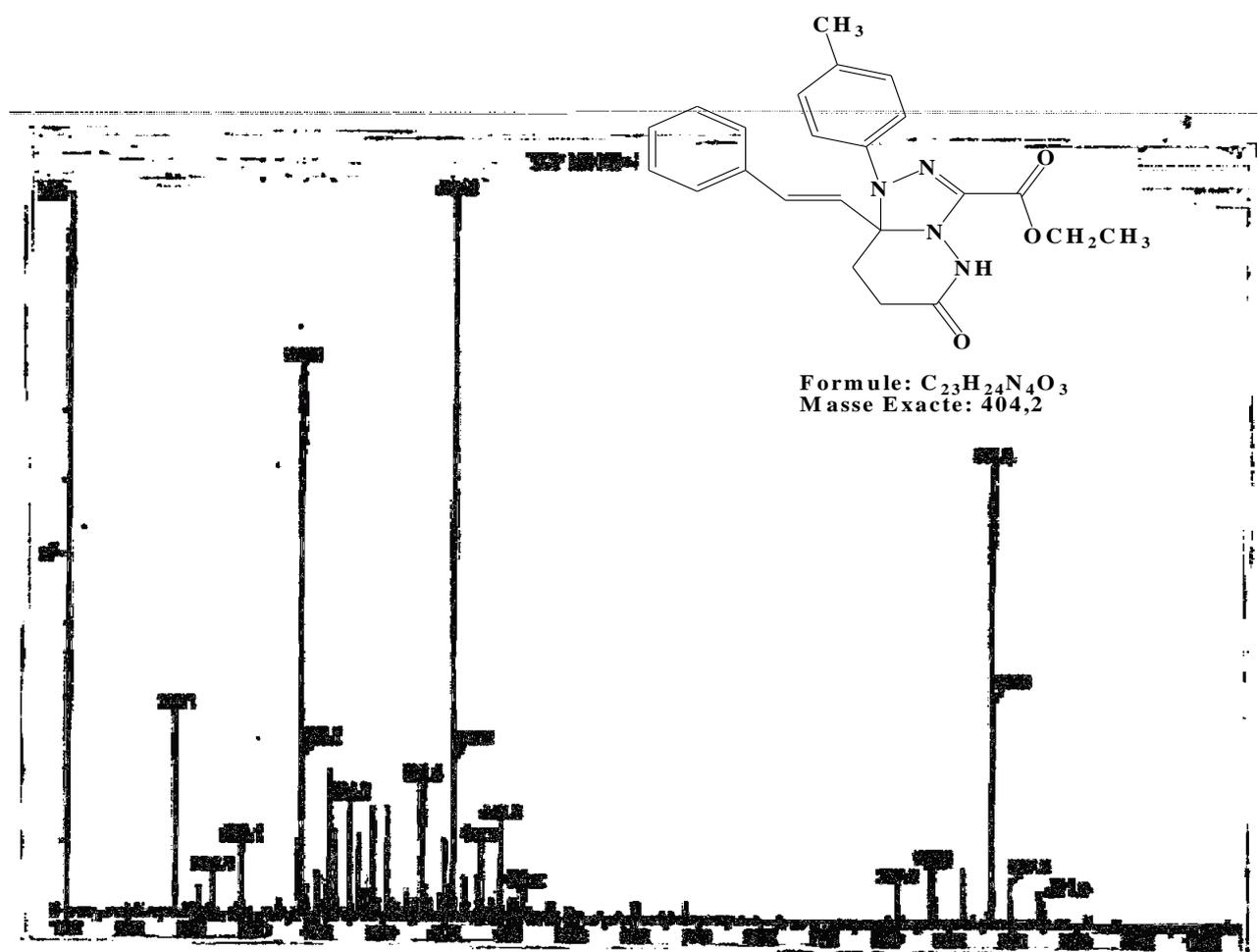


Figure 13: Spectre de masse TOF-ES⁺ du composé 32c

IV- Conclusion

Les N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines sont des précurseurs importants pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type triazolopyridazinones via la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one. Ce dernier a été préparé par condensation de benzaldéhyde avec l'acide lévulinique puis traité par l'hydrazine.

La présence de trois sites dipolarophiles potentiels de la pyridazinone nous a permis d'envisager la péri- et la régiosélectivité de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3. L'addition du dipôle s'effectue préférentiellement sur la double liaison C=N. la réaction est périsélective. Le sens d'addition du dipôle est unique. Un seul cycloadduit a été identifié avec un rendement moyen. La réaction est régiosélective.

V- Conclusion de la première partie

Le travail que nous avons présenté dans cette partie se rapporte à la synthèse, réactivité et étude pharmacologique en série pyridazinique est divisé en deux chapitres.

Le premier chapitre a été consacré à la synthèse de nouveaux composés d'acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4 dihydropyridazine-3-carboxylique à partir de la réaction de condensation des dérivés de l'aniline substitués en différentes positions avec le 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone. L'étude de la réactivité de l'acide 1-(4-fluorophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydro pyridazine-3-carboxylique vis-à-vis des agents binucléophiles tels que l'hydrazine et la phénylhydrazine nous a permis de synthétiser des pyrazolo[4,3-c]pyridazinones avec de bon rendements.

Nous avons montré que les tests pharmacologiques réalisés sur certaines de nos pyridazinones vis-à-vis de la lignée cellulaire P815 ont donnée des activités antitumorales significatives. L'acide 6-méthyl-1-(4-nitrophényl)-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3 carboxylique est le plus actif de la série des pyridazinones synthétisés ($IC_{50} = 0.40 \mu\text{g/ml}$).

Dans la deuxième partie du chapitre I, nous avons aussi synthétisé de nouvelles structures dérivés de 6-aryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one à partir de la réaction de condensation de l'arylaldehyde avec l'acide levulinique et l'hydrazine. L'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis de différent agents alkylants a permis de localiser le site réactif et de synthétiser de nouveaux dérivés *N*-alkylés qui peuvent présenter des activités biologiques potentielles.

Dans le deuxième chapitre, nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines avec le 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one. La présence de plusieurs sites dipolarophiles potentiels nous a permis d'envisager la péri- et la régiosélectivité de la réaction. Nous avons isolé un seul cycloadduit de type triazolopyridazinone issu de l'addition du dipole sur la double liaison carbone-azote.

En se basant sur les données spectrales (RMN¹H, RMN¹³C, IR et Masse) nous avons montré que ces réactions sont péri- et régiosélective.

VI- Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

Les points de fusion non corrigés ont été pris en tube capillaire sur l'appareil Buchi-Tottoli. Toutes les masses molaires (MM) qui sont indiquées dans la partie expérimentale sont exprimées en grammes par mole.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés dans CDCl_3 , DMSO-d_6 et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC instruments 300 (^1H) ou 75MHz (^{13}C). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN ^{13}C ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 577 en pastille de bromure de potassium pour les solides.

Les spectres de masse basse résolution (MS) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer Sciex API 3000 spectromètre

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0,2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

Les réactifs du commerce ont été utilisés sans aucune purification, sauf mention contraire.

Préparation des précurseurs de la N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31a-h

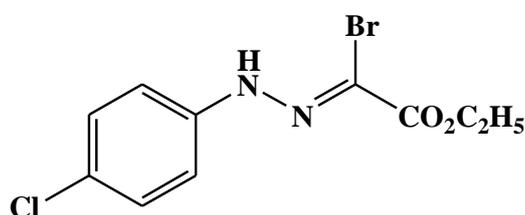
Synthèse des aryldiazines α -acétoglyoxylates d'éthyle 30a-h

Mode opératoire: 0,1 mole d'aniline para-substituée est dissoute dans un mélange de 50 mL d'eau et 25 mL d'acide chlorhydrique concentré (on chauffe si nécessaire). La solution obtenue est refroidie par addition de glace puis diazotée par 0,1 mole de nitrite de sodium dissous dans 15 mL d'eau. La solution de diazonium est versée rapidement dans un mélange contenant 0,1 mole d'acétoacétate d'éthyle, 75 mL d'éthanol, 0,335 mole d'acétate de sodium et 500 mL d'eau glacée. Le mélange réactionnel est agité mécaniquement pendant quatre heures pour donner un solide. Celui-ci est filtré, lavé à l'eau puis recristallisé dans l'éthanol.

Synthèse des hydrazyno- α -bromoglyoxylates d'éthyle 31a-h

Mode opératoire : Une solution de 0,037 mole de brome dissoute dans 10 mL d'acide acétique est ajoutée à un mélange de 50 mL d'acide acétique, 27ml d'anhydride acétique, 0,09 mole d'acétate de sodium et 0.037 mole de l'hydrazone préparée précédemment. L'addition s'effectue goutte à goutte pendant une durée de 45 mn et à une température comprise entre 0 et 5°C. Après l'addition, la solution est versée dans 200 ml d'eau, agitée pendant une heure puis abandonné à 0°C pendant une nuit. Le solide est filtré et recristallisé dans l'éthanol.

N-(4-Chlorophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31a



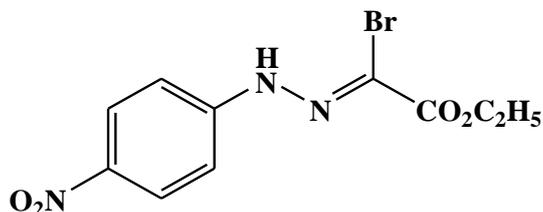
Rdt = 60 %

PF = 130-132 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 8,38 (s, 1H, NH), 8,28 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 7,16 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 4,39 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 1,40 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 159,48 (C=O), 140,03 (C), 129,51 (2CHAr), 128,2(C), 115,8 (2CHAr), 110,5(C), 63,0 (CH₂), 14,2 (CH₃).

N-(4-Nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31b



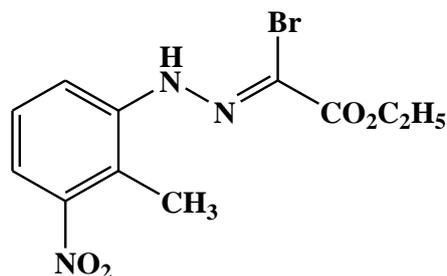
Rdt = 65 %

PF = 204-206 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) : δ 8,61 (s, 1H, NH), 8,25 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 7,32 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 4,42 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 1,42 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 159,0 (C=O), 146,4 (C), 143,0 (C), 125,9 (2CHAr), 114,3 (2CHAr), 114,0 (C), 63,5 (CH₂), 14,2 (CH₃).

N-(2-Méthyl-3-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31d



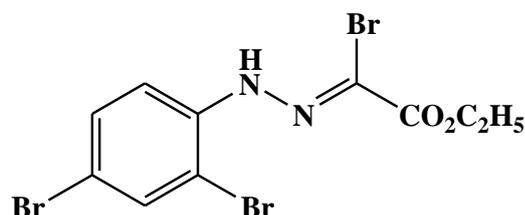
Rdt= 50 %

PF = 112-114 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 8,44 (s, 1H, NH), 7,78 (d, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz), 7,48 (d, 1H, H-Ar, J = 8,0 Hz), 7,33 (t, 1H, H-Ar, J = 8,1 Hz), 4,40 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 2,41 (s, 3H, CH₃), 1,41 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 159,2 (CO), 151,3 (C), 140,9 (C), 132,1 (C), 127,6 (CH), 118,9 (CH), 118,2 (CH), 113,3 (C), 63,4 (CH₂O), 14,2 (CH₃), 12,2 (CH₃).

N-(2,4-Dibromophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31e



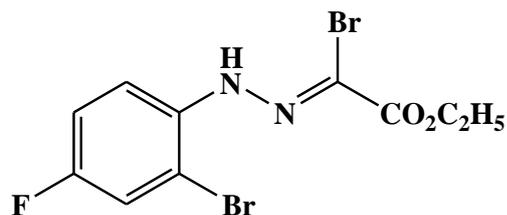
Rdt= 72 %

PF = 120-122 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) : δ 8,88 (s, 1H, NH), 7,39-7,65 (m, 3H, H-Ar), 4,40 (q, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂), 1,41 (t, 3H, J = 7,2Hz, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 159,3 (CO), 138,0 (C), 134,6 (CH), 131,9 (CH), 117,4 (CH), 115,1 (C), 113,2 (C), 108,9 (C), 63,2 (CH₂O), 14,2 (CH₃).

N-(2-Bromo-4-fluorophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31f

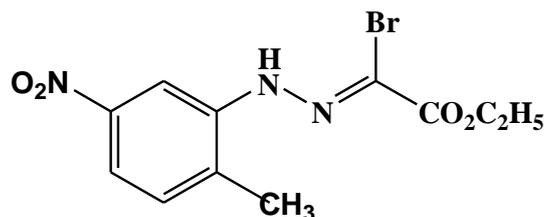


Rdt = 56 %

PF = 96-98 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) : δ 8,81 (s, 1H, NH), 8,56 (d, 1H, H-Ar, J = 7,8 Hz), 7,27 (dd, 1H, H-Ar, J = 2,8 Hz et 7,8 Hz), 7,08 (d, 1H, H-Ar, J = 2,8 Hz), 4,39 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 1,40 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

***N*-(2-Méthyl-5-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31g**



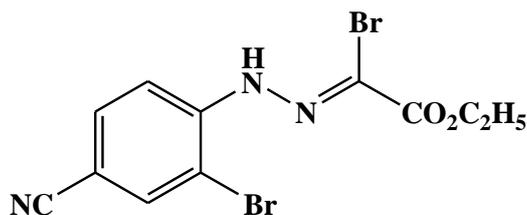
Rdt = 68 %

PF = 150-152 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 8,37 (s, 1H, NH), 8,35 (d, 1H, H-Ar, J = 2,4 Hz), 7,82 (dd, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz et 2,4 Hz), 7,31 (d, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz), 4,44 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 2,42 (s, 3H, CH₃), 1,44 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 159,2 (CO), 147,8 (C), 140,2 (C), 131,3 (CH), 129,1 (C), 117,2 (CH), 113,7 (C), 109,6 (CH), 63,4 (CH₂O), 17,1 (CH₃), 14,2 (CH₃).

(2-Bromo 4-Cyano)phényl-C-éthoxycarbonylnitrilimine 31h



Rdt = 60 %

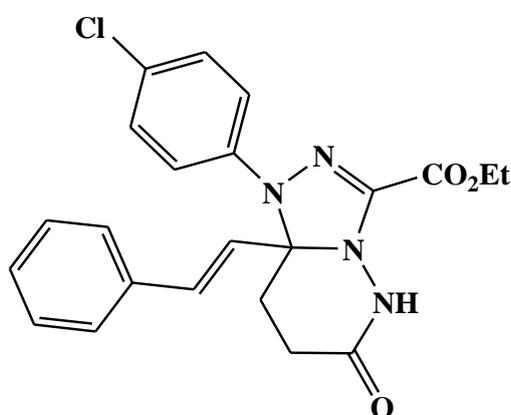
PF = 138-140 °C

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 9,06 (s, 1H, NH), 7,81 (d, 1H, J = 1,6 Hz, H-Ar), 7,67 (d, 1H, J = 8,5 Hz, H-Ar), 7,60 (dd, 1H, J = 1,6 Hz et 8,5 Hz, CH-Ar), 4,42 (q, 2H, J = 7,1 Hz, CH₂), 1,42 (s, 3H, J = 7,1 Hz, CH₃).

Synthèse des triazolo[4,3-b]pyridazines 32a-e

Mode opératoire : (5 mmoles, 1.0 g) de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **1** et (5 mmoles) d'éthylhydrazono- α -bromoglyoxylate **31a-e** sont dissous dans 50 mL de tétrahydrofurane et (2.1g, 15 mmoles) de K_2CO_3 est ajoutée. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 5-8 heures. Après l'évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate/hexane : 2/8).

Ethyl 1-(4-chloro-phényl)-6-oxo-8a-styryl-1,5,6,7,8,8a-héxahydro[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine-3-carboxylate 32a



Rdt: 65%.

PF: 185–187°C.

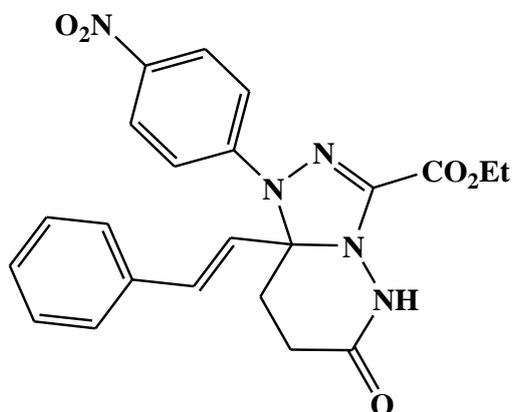
IR (KBr, cm^{-1}): 1680 (CONH), 1720 (CO ester), 3035 (NH).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300MHz): δ 7,54 (s, 1H, NH), 7,33–7,44 (m, 5H, ArH), 7,21–7,30 (m, 4H, ArH), 6,81 (d, 1H, J = 16,1 Hz), 6,48 (d, 1H, J = 16,1 Hz), 4,38 (q, 2H, CH_2O , J = 7,1 Hz), 2,83–2,90 (m, 1H), 2,29–2,44 (m, 3H), 1,40 (t, 3H, CH_3 , J = 7,1 Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 75MHz): δ 174,1 (CO ester), 158,5 (CONH), 145,9 (C), 140,2 (C), 139,3 (C), 135,0 (C), 134,1 (CH), 129,8 (2CH), 129,0 (CH), 128,8 (2CH), 128,5(CH), 127,1 (2CH), 118,1 (2CH), 87,7 (C-8a), 62,4 (CH_2O), 29,4 (CH_2), 28,7 (CH_2), 14,2 (CH_3).

HRMS (ESI-TOF) m/z: pour $C_{22}H_{21}ClN_4O_3Na$ $[M+Na]^+$ calculée: 447,11944 trouvée: 447,11900.

Ethyl 1-(4-nitro-phényl)-6-oxo-8a-styryl-1,5,6,7,8,8a-héxahydro[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine -3-carboxylate 32b



Rdt: 49%.

PF: 168–170°C.

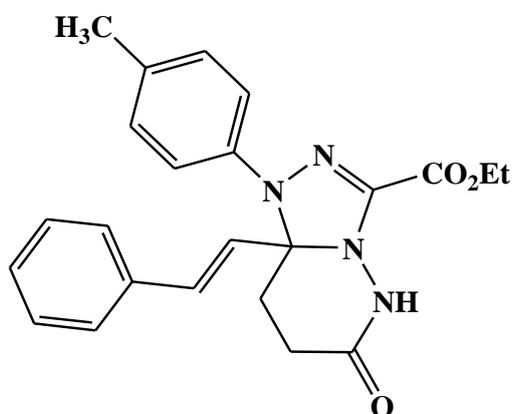
IR (KBr, cm⁻¹): 1530, 1320 (NO₂), 1670 (CONH), 1725 (CO ester), 3050 (NH).

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz): δ 8,03–8,13 (m, 2H, ArH), 7,73–7,78 (m, 1H, ArH), 7,71 (s, 1H, NH), 7,32–7,39 (m, 6H, ArH), 6,85 (d, 1H, J = 16,3 Hz), 6,22 (d, 1H, J = 16,3 Hz), 4,39 (q, 2H, CH₂O, J = 7,2 Hz), 2,74–2,81 (m, 1H), 2,24–2,36 (m, 3H), 1,41 (t, 3H, CH₃, J = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 172,1 (CO ester), 157,9 (CONH), 146,4 (C), 142,2 (C), 140,1 (C), 134,8 (C), 132,5 (CH), 129,1 (CH), 128,9 (2CH), 126,9 (2CH), 126,4 (2CH), 122,8 (CH), 122,1 (2CH), 86,8 (C-8a), 62,5 (CH₂O), 30,4 (CH₂), 29,1 (CH₂), 14,1 (CH₃).

HRMS (ESI-TOF) m/z: pour C₂₂H₂₂N₅O₅ [M+H]⁺ calculée: 436,16155 trouvée: 436,16116.

Ethyl 6-oxo-8a-styryl-1-p-tolyl-1,5,6,7,8,8a-héxahydro-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine-3-carboxylate 32c



Rdt: 56%.

PF: 182–184°C.

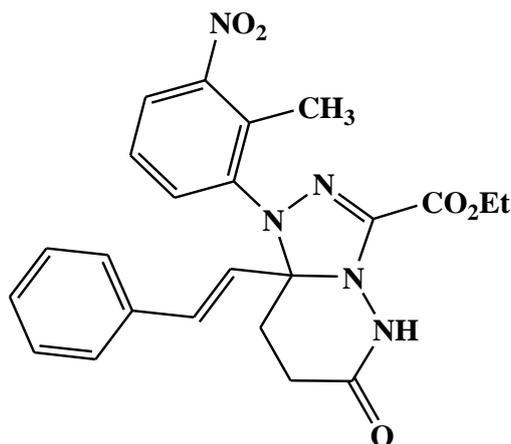
IR (KBr, cm^{-1}): 1685(CONH), 1710 (CO ester), 3050 (NH).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz): δ 7,53 (s, 1H, NH) 7,43–7,46 (m, 2H, ArH), 7,28–7,39 (m, 3H, ArH), 7,22 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,08 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 6,83 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz). 6,49 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz), 4,37 (q, 2H, CH_2O , $J = 7,2$ Hz), 2,78–2,89 (m, 1H), 2,26–2,39 (m, 3H), 2,28 (s, 3H, CH_3), 1,40 (t, 3H, CH_3 , $J = 7,2$ Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz): δ 174,3 (CO ester), 158,2 (CONH), 146,1 (C), 140,6 (C), 138,4 (C), 135,3 (C), 133,5 (CH), 133,0 (C), 129,8 (2CH), 128,9 (2CH), 128,7 (2CH), 127,1 (2CH), 117,8 (2CH), 88,1 (C-8a), 62,6 (CH_2O), 30,3 (CH_2), 28,6 (CH_2), 15,9 (CH_3), 14,2 (CH_3).

HRMS (ESI-TOF) m/z: pour $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculée: 405,19212 trouvée: 405,19201.

Ethyl 1-(2-méthyl-3-nitro-phényl)-6-oxo-8a-styryl-1,5,6,7,8,8a-héxahydro-[1,2,4]triazolo [4,3-b]pyridazine-3-carboxylate 32d



Rdt: 51%.

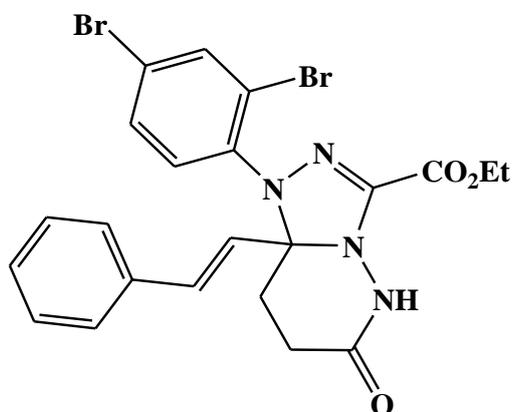
PF: 136–138°C.

IR (KBr, cm^{-1}): 1545, 1310 (NO_2), 1670 (CONH), 1710 (CO ester), 3060 (NH).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) : δ 7,80 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,76 (s, 1H, NH), 7,52 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,29–7,41 (m, 6H, ArH), 6,86 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz), 6,15 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz), 4,40 (q, 2H, CH_2O , $J = 7,2$ Hz), 2,45–2,64 (m, 3H), 2,40 (s, 3H, CH_3), 2,01–2,11 (m, 1H), 1,40 (t, 3H, CH_3 , $J = 7,2$ Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz): δ 171,9 (CO ester), 157,8 (CONH), 147,4 (C), 140,2 (C), 134,9 (C), 133,7 (CH), 133,0 (CH), 131,9 (C), 129,1(CH), 128,9 (2CH), 127,0 (2CH), 126,7 (CH), 126,2 (CH), 123,8 (CH), 88,9 (C-8a), 62,6 (CH_2O), 30,3 (CH_2), 28,6 (CH_2), 16,0 (CH_3), 14,1 (CH_3).

Ethyl 1-(2,4-dibromo-phényl)-6-oxo-8a-styryl-1,5,6,7,8,8a-héxahydro-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine-3-carboxylate 32e



Rdt: 46%

PF: 160–162°C.

IR (KBr, cm⁻¹): 1675 (CONH), 1715 (CO ester), 3060 (NH).

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) : δ 7,80 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 7,61 (s, 1H, NH), 7,40 (dd, 1H, J = 8,3 Hz, J = 2,2 Hz), 7,32–7,38 (m, 5H, HAr), 7,14 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,79 (d, 1H, J = 15,9 Hz), 6,20 (d, 1H, J = 15,9 Hz), 4,39 (q, 2H, CH₂O, J = 7,1 Hz), 2,78–2,90 (m, 1H), 2,45–2,62 (m, 2H), 2,08–2,18 (m, 1H), 1,38 (t, 3H, CH₃, J = 7,1 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 75MHz): δ 173,1 (CO ester), 157,9 (CONH), 146,2 (C), 142,5 (C), 138,5 (CH), 136,7 (CH), 133,0 (CH), 131,9 (CH), 131,1 (CH), 128,9 (CH), 128,8 (2CH), 127,0 (2CH), 123,8 (C), 122,2 (C), 88,0 (C-8a), 62,5 (CH₂O), 31,9 (CH₂), 28,9 (CH₂), 14,2 (CH₃).

Chapitre III :
**Cycloaddition dipolaire 1,3 des porphyrines : Synthèse
de nouvelles pyrazolin- et pyrazoloporphyrines en vue
de leur application en photothérapie dynamique**

La lutte contre le cancer est devenue un enjeu majeur aussi bien d'un point de vue humain qu'économique. De nos jours, la cancérologie concentre son action sur le diagnostic précoce des tumeurs et le développement de nouveaux traitements ciblés. En effet, le diagnostic précoce permet ensuite de traiter efficacement les tumeurs, avec des chances de guérison plus grandes. La mise au point de traitements ciblés agissant spécifiquement au niveau des cellules tumorales pourrait augmenter l'efficacité thérapeutique et la tolérance des médicaments actuels.

La photothérapie dynamique (PDT: Photo-Dynamic Therapy) est une méthode de traitement des cancers assez récente et qui présente des avantages majeurs. En effet dans le cadre de la PDT, la lumière et le photosensibilisateur (PS) sont dénués de toute toxicité intrinsèque par rapport aux autres traitements du cancer. Seules les zones ayant accumulées le photosensibilisateur et recevant de la lumière vont subir l'effet toxique du traitement. Nous avons porté une attention toute particulière à la photothérapie dynamique anticancéreuse que nous nous proposons d'examiner plus en détail dans le paragraphe suivant.

La PDT est basée sur l'utilisation des photosensibilisateurs en général des dérivés de porphyrine, rendus cytotoxiques par irradiation lumineuse en présence d'oxygène. Ces photosensibilisants ont comme double spécificité de se fixer préférentiellement au niveau des tissus néoplasiques et de n'être toxique qu'en présence de lumière, ils induisent des réactions chimiques oxydatives (grâce à la formation d'espèces radicalaires et d'espèces réactives de l'oxygène) entraînant des altérations cellulaires irréversibles au niveau de la tumeur. Parmi les porphyrines et leurs dérivés les plus couramment utilisés pour le traitement contre le cancer, deux grandes catégories de produits constituent l'arsenal thérapeutique actuel. Nous avons les agents de première génération qui sont des mélanges complexes de porphyrines naturelles, obtenus à partir du sang: l'hématoporphyrine dérivé (HpD) et le Photofrin II[®]. Les photosensibilisateurs introduits par la suite sont synthétiques. Nous pouvons citer comme molécules de seconde génération le Foscan[®] qui est actuellement utilisé dans le traitement des cancers de l'œsophage, du larynx et des poumons.

Devant le nombre restreint de photosensibilisateurs efficaces à structure bien définie présents sur le marché, la recherche de nouvelles molécules capables d'atteindre spécifiquement les cellules cancéreuses est un problème d'actualité.

Notre travail s'inscrit dans ce cadre et axé sur la synthèse et la caractérisation de nouveaux systèmes macrocycliques dérivés de la porphyrine en vue de leur application comme photosensibilisateur en photothérapie dynamique du cancer.

Notre travail sera composé de quatre parties:

- Une revue de la littérature illustrant les problématiques du cancer, les principales thérapies utilisés actuellement et quelques généralités sur la chimie des porphyrines ;
- Une étude bibliographique sur les réactions de cycloaddition 1,3- dipolaire de porphyrine avec une variété des dipôles 1,3 à savoir des ylures azométhine, les nitrones, nitrile oxide les diazoalcanes et ylures de carbonyle;
- Synthèse et réactivité des pentafluorophenylporphyrine substitués en position méso vis-à-vis des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines;
- Etude des propriétés photophysiques de nouvelles cycloadduits de porphyrine synthétisées pour identifier les composés qu'on peut utiliser comme candidats photosensibilisateur en PDT du cancer, une étude cytotoxique de certains composés sur la lignée cellulaire murine de mastocytome P815 afin d'évaluer, *in vitro*, leur potentiel antitumoral sera aussi envisagée.

I- Le Cancer

I-1- Problématiques

Il est bien connu aujourd'hui que le cancer est une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le monde.

Le Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC), l'agence spécialisée de l'organisation mondiale de la santé sur le cancer, publie aujourd'hui les dernières données sur l'incidence, la mortalité et la prévalence du cancer dans le monde et donne les estimations les plus récentes pour 28 types de cancers dans 184 pays [1].

En 2012, le fardeau mondial du cancer s'élève à 14,1 millions le nombre de nouveaux cas de cancer et à 8,2 millions le nombre de décès, par rapport à 12,7 millions et 7,6 millions en 2008 respectivement [2].

[1] GLOBOCAN 2012, IARC

[2] F. Bray, Jian-Song Ren, E. Masuyer, J. Ferlay, *Int. J. Cancer*, **2013**,132, 1133–1145.

Les taux d'incidence demeurent les plus élevés dans les régions les plus développées, mais la mortalité est beaucoup plus élevée relativement dans les pays pauvres, faute de détection précoce et d'accès aux traitements.

Le nombre de cas de cancer par an devrait augmenter de 14 millions en 2012 à 22 millions au cours des deux prochaines décennies.

Il est aujourd'hui urgent, pour mieux lutter contre le cancer, de développer des approches efficaces et abordables pour la prévention, détection précoce, le diagnostic et le traitement du cancer.

Le terme général de «cancer» s'applique à un grand groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme. On parle aussi de tumeur dangereuse (maligne ou de néoplasme) pour l'organisme. En effet la cellule cancéreuse peut se « détacher » de la tumeur, migrer dans une autre partie du corps (par le sang ou par la lymphe). Elle détruit ainsi les cellules normales ; créant une nouvelle tumeur : on parle de métastase. Le développement tumoral se poursuivant ; la tumeur peut entrer dans un état dit d'hypoxie et déclenche ainsi l'angiogenèse tumorale [3]. Ce développement anarchique des cellules cancéreuses conduit à des altérations des fonctions vitales (respiration, digestion et excrétion) qui peuvent mener dans le cas les plus avancés au décès du patient.

La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale provient des interactions entre les facteurs génétiques et des agents extérieurs comme les composants de la fumée du tabac et la consommation d'alcool, polluant de l'eau de boisson, les rayonnements ultraviolet et les radiations ionisantes, les infections dues à certains virus (notamment par le virus de l'hépatite B, C ou le papilloma virus humain (HPV)) [4], bactéries ou parasites, le manque d'exercice physique.

I-2- Méthodes utilisés pour le traitement du cancer

Une fois le diagnostic du cancer est posé, un traitement est proposé à la personne malade: il résulte d'une concertation entre différents spécialistes et dépend étroitement du type de cancer et de son stade de progression.

[3] G. Bergers and L. E. Benjamin., *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, 3, 401-410.

[4] C. Martel, J. Ferlay, S. Franceschi et al., *The Lancet Oncology*, **2012**, 13, 607-615.

Il existe trois modalités principales de traitement des cancers : la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie. Pour certains types de cancer, il est également possible de faire appel à l'hormonothérapie ou à l'immunothérapie. Selon les cas, ces modalités peuvent être prescrites seules, successivement ou en association.

La chirurgie, premier type de thérapie utilisée contre le cancer, elle est utilisée dans le cas de tumeur localisée en un endroit du corps. Elle consiste à enlever cette tumeur. Elle n'est donc pas adaptée pour les cancers qui touchent le système lymphatique (lymphomes) ou le système sanguin (leucémie). Elle est aussi souvent moins adaptée lorsqu'il existe une diffusion du cancer à distance dans d'autres organes sous forme de métastases.

De plus l'élimination de la masse tumorale s'accompagne souvent de la destruction d'une partie du tissu sain environnant, perturbant ainsi le fonctionnement des organes. Pour améliorer son efficacité, la chirurgie est souvent associée à un autre mode de traitement (chimiothérapie, radiothérapie).

La radiothérapie utilise les rayonnements ionisant émis par certains éléments radioactifs pour détruire les cellules anormales ou du moins ralentir leur progression. Cette méthode est surtout utilisée dans le cas de petites tumeurs, elle n'éradique pas toutes les cellules tumorales et n'est pas adaptée dans le cas de cancers métastasés.

La chimiothérapie qui implique l'utilisation de produits chimiques, ayant un effet direct sur les cellules malades, soit en les détruisant, soit en empêchant leur prolifération anarchique au sein de l'organisme. Contrairement à la chirurgie ou la radiothérapie, la chimiothérapie est un traitement général et non local qui doit s'intégrer dans une approche globale de la maladie, Elle peut être prescrite avant une intervention chirurgicale ou un traitement par radiothérapie (pour diminuer le volume d'une tumeur) ou dans le cadre de cancers métastasés.

En fonction des substances utilisées en chimiothérapie, on trouve différents modes d'action: certains médicaments empêchent la division cellulaire et d'autres bloquent le cycle de croissance des cellules. Parmi ces molécules on trouve le 5-FU (5-fluoro-uracile), inhibent la biosynthèse des acides nucléiques en bloquant certaines étapes essentielles. Les agents alkylants, comme le cis-platine se lient par liaison covalente aux acides nucléiques, inhibant la transcription et la division cellulaire.

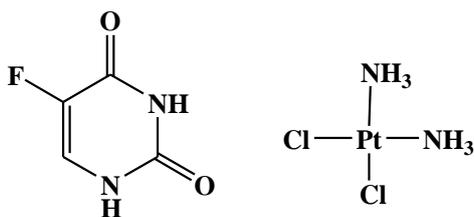


Figure 1: Structure des molécules utilisées en chimiothérapie

Actuellement, les protocoles associent souvent différentes molécules afin d'obtenir une additivité ou une synergie des effets. Malheureusement, leur action toxique peut également toucher dans une bien moindre mesure les cellules saines. Ainsi la plupart des chimiothérapies entraînent une chute des globules blancs, chargés de défendre l'organisme contre les infections. Le système immunitaire est atteint. C'est là que peuvent apparaître des effets secondaires tels que vomissements, douleurs digestives, des troubles du sommeil, perte des cheveux. Le phénomène de résistance est commun à toutes les substances anticancéreuses apparaissent également limitent l'efficacité thérapeutique, on parle alors de Multidrug resistance (MDR). Pour palier cet inconvénient il faudrait combiner plusieurs thérapies (chimiothérapie, radiothérapie, ...).

Hormonothérapie: La croissance de certains cancers est stimulée par des hormones. C'est le cas pour certains types de cancers du sein ou de la prostate par exemple. On dit de ces cancers qu'ils sont « hormonodépendants ». L'hormonothérapie consiste à empêcher l'action stimulante des hormones sur les cellules cancéreuses. Elle permet ainsi d'empêcher le développement de ces tumeurs et leurs éventuelles métastases.

L'immunothérapie vise à remplacer ou modifier les défenses naturelles du corps humain. Elle est fondée sur l'idée que le système immunitaire voit les cellules cancéreuses comme des « étrangères » et qu'il est donc susceptible de les éliminer.

Malgré l'efficacité de toutes ces techniques utilisés et même si les progrès incessants réalisés de traitement, détection et de prévention, le cancer reste l'une des premières causes de mortalité dans le monde.

Une nouvelle méthode développée depuis quelques années et présente des résultats prometteurs et pourrait devenir un traitement efficace de cancers dans les années à venir, c'est la photothérapie dynamique.

La **Photothérapie dynamique** peut être utilisée pour deux types d'applications : une application thérapeutique et diagnostique (figure 2). En effet la première étape en PDT consiste à introduire par voie intraveineuse l'agent photosensibilisateur au sein d'un tissu présentant une tumeur. L'illumination de ce tissu enrichi en porphyrine induit des réactions chimiques oxydatives entraînant des altérations cellulaires irréversibles tout en préservant les tissus sains dépourvus de photosensibilisateur.

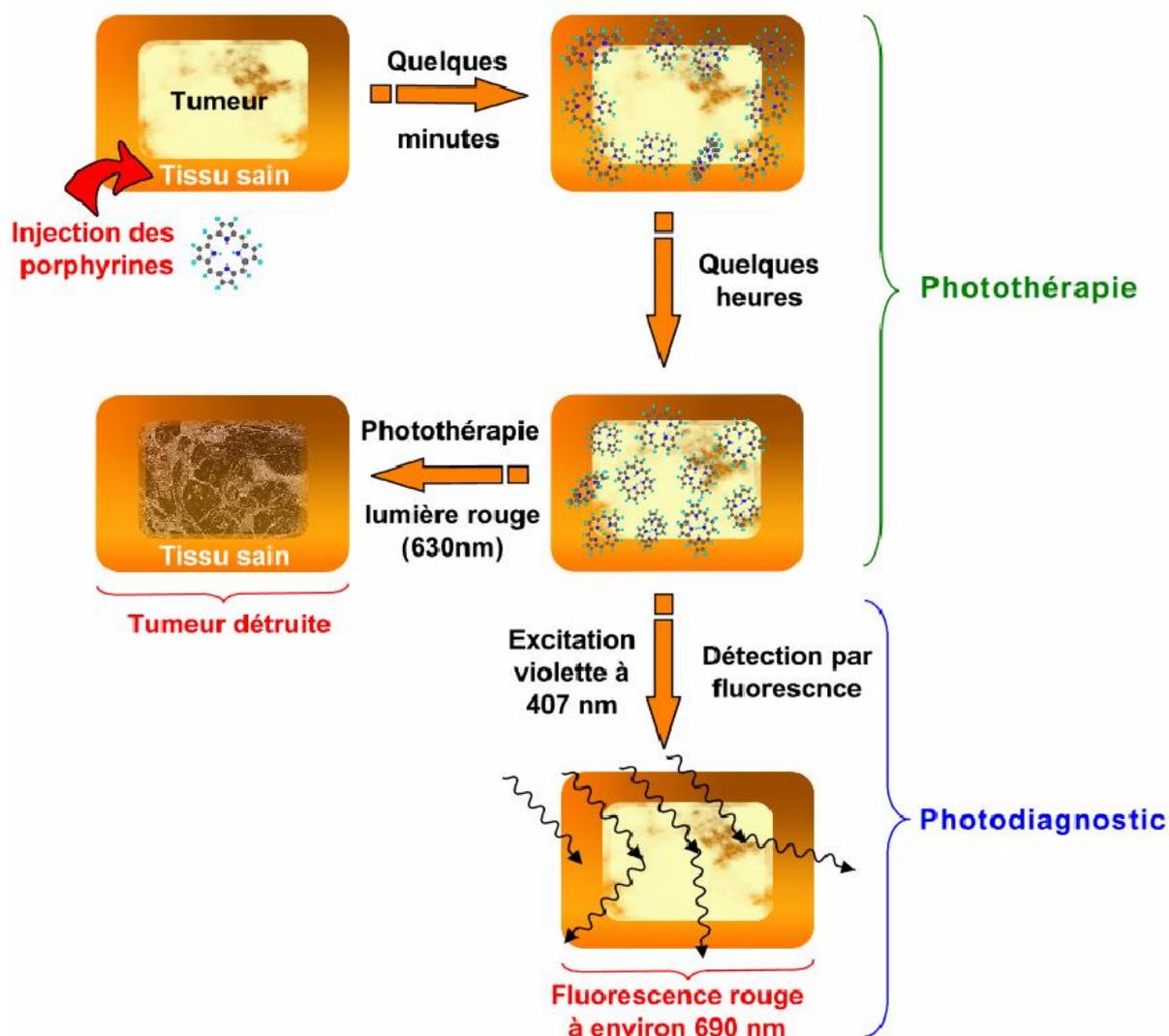


Figure 2 : Principe de la photothérapie dynamique avec ces deux composantes: la thérapeutique et la photodétection

II- Les porphyrines et photothérapie dynamique (PDT)

II-1- Photothérapie dynamique

II-1-1- Mécanismes

La thérapie photodynamique ou photochimiothérapie est une technique à visée thérapeutique originale. En effet, pour être efficace, le traitement nécessite l'action de trois agents: Un photosensibilisant, la lumière et l'oxygène. Le photosensibilisant a la propriété de s'incorporer préférentiellement au niveau des tissus cancéreux, en comparaison avec le tissu sain environnant. Ensuite, sous l'action d'une lumière de longueur d'onde appropriée, deux effets distincts sont observés:

- Un effet thérapeutique: Lorsque le photosensibilisant est incorporé dans les cellules néoplasiques et activé par la lumière, il peut engendrer des réactions chimiques oxydatives qui vont conduire à la formation de radicaux et d'espèces réactives de l'oxygène. Ces différentes espèces entraînent des altérations cellulaires irréversibles, au niveau des lipides membranaires, des protéines ou encore des acides nucléiques induisant la mort cellulaire par nécrose et/ou apoptose [5,6].
- Le diagnostic: Lorsque le photosensibilisant est excité par une lumière de longueur d'onde appropriée, il émet une fluorescence. L'analyse de cette fluorescence permet ainsi de détecter avec précision des lésions néoplasiques avec une sensibilité supérieure à celle des moyens d'investigation actuellement disponibles.

II-1-2- Les processus photochimiques

Le photosensibilisant dans son état fondamental S_0 passe au niveau excité singulet S_n par absorption d'un photon d'énergie $h\nu$ suffisante. En un temps très court, Il y a ensuite retour à l'état singulet excité de plus basse énergie S_1 par processus de conversion interne.

[5] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, O. Peng. *J. Natl Cancer inst.*, **1998**, 90, 889-905.

[6] R.A. Hsi, D. I. Rosenthal, E. Glatstein, *Drugs*, **1999**, 57, 725-734.

Lorsque le photosensibilisant est à l'état S_1 , il peut revenir à l'état fondamental S_0 par émission de fluorescence, ou désactivation non radiative, ou passer à l'état excité T_1 par conversion intersystème (CIS). La conversion intersystème, qui est une transition interdite, nécessite que le photosensibilisant à l'état singulet S_1 ait une durée de vie suffisamment longue afin d'augmenter la probabilité d'inversion de spin électronique. Les porphyrines et leurs dérivés possèdent cette propriété et passent à l'état triplet avec, généralement un rendement élevé (de l'ordre de 50%). Dans ce cas, le retour à l'état fondamental S_0 est très lent car il s'agit, à nouveau, d'une transition interdite. La durée de vie de l'état triplet est par conséquent longue [7] et permet au photosensibilisant soit de se désactiver par phosphorescence soit de réagir avec d'autres molécules environnantes, suivant deux types de réactions, dites de type **I** et de type **II** [8]. Ces processus sont schématisés par le diagramme de Jablonski (Figure 3).

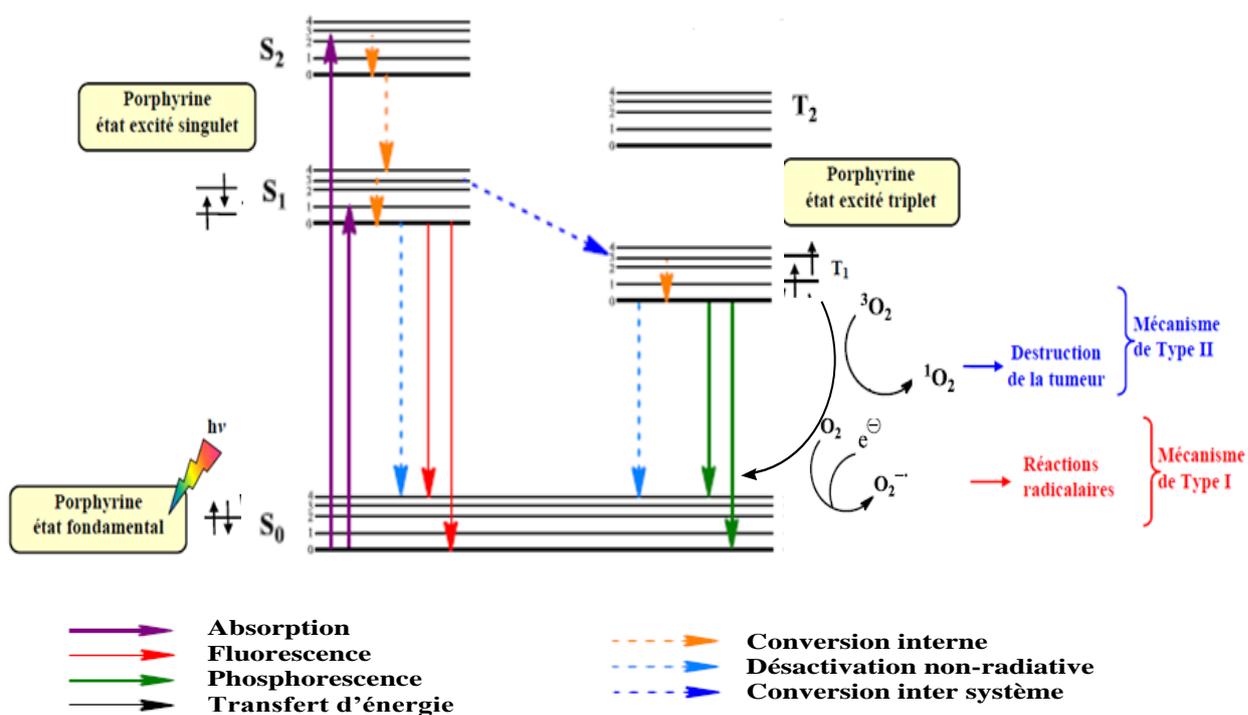


Figure 3 : Diagramme de Jablonski modifié (mécanisme photochimique de la PDT) [9].

[7] T. Takemura, N. Ohta, S. Nakajima, I. Sakata, *Photochem. Photobiol.*, **1989**, 50, 339-344.

[8] C. S. Foote. *Photochem. Photobiol.*, **1991**, 54, 659.

[9] R. Bonnett ; *J. Heterocycl. Chem.*, **2002**, 39, 455-470.

Les photoréactions de type I: Le mécanisme dit de type I implique un transfert d'électrons ou d'hydrogène entre le photosensibilisant à l'état excité et des substrats biologiques pour former des radicaux et des ions radicalaires, conduisant, finalement, à la formation d'espèces réactives de l'oxygène :



Les radicaux PSH \cdot et PS \cdot Ainsi formés peuvent alors réagir sur un nouveau substrat RH ou sur l'oxygène moléculaire à l'état fondamental triplet (${}^3\text{O}_2$). Cette dernière réaction permet à la fois la formation d'agents oxydants (exemple: anion superoxyde, hydroxyle) très toxiques et destructeurs pour la cellule et la régénération du photosensibilisant:



Les photoréactions de type II : Ce mécanisme conduit à la production d'oxygène singulet (${}^1\text{O}_2$): L'état triplet du photosensibilisateur peut également transférer son énergie à l'oxygène moléculaire, qui a la particularité d'avoir un état fondamental triplet. Le photosensibilisateur revient alors à son état fondamental S_0 , l'oxygène étant porté à un état singulet, ${}^1\text{O}_2$. Cet oxygène singulet est un oxydant puissant. Il est donc létal pour les cellules.



L'oxygène singulet ${}^1\text{O}_2$, formé par l'action combinée d'un photosensibilisateur, de lumière et d'oxygène, est un puissant oxydant [10] qui réagit avec de nombreux constituants cellulaires tels les triacyles glycérols saturés, le cholestérol des membranes, les phospholipides, les acides aminés (histidine, tryptophane, méthionine) et les acides nucléiques (Figure 4).

[10] H. J. Nyst, I. B. Tan, F. A. Stewart, A. J. M. Balm, *Photodiag. Photodyna. Ther.* **2009**, 6, 3.

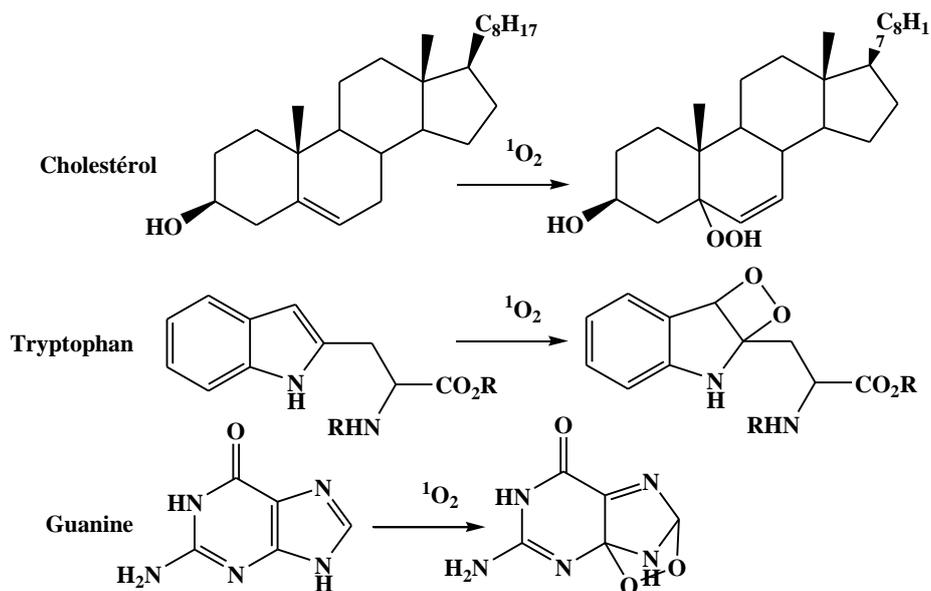


Figure 4: Exemples des réactions menant à la destruction de la tumeur

Il est admis que l'oxygène singulet est l'agent toxique le plus important en PDT bien qu'il reste difficilement quantifiable dans les milieux biologiques, cela dit que l'effet photodynamique est constitué par un ensemble de processus complexes qui vont induire l'inactivation des constituants cellulaires et par la suite, la mort cellulaire grâce à la formation d'espèces radicalaires et d'espèces réactives de l'oxygène.

II-2- Les photosensibilisateurs en thérapie photodynamique

II-2-1- Le photosensibilisateur idéal

Si le principe de la photothérapie dynamique est réellement séduisant, son application pratique se heurte à de nombreuses difficultés, car les paramètres des réactions responsables de la destruction tumorale tels que la température, la nature, la concentration et la répartition du photosensibilisant (au niveau tissulaire et intracellulaire), le pH ou encore le taux d'oxygène, la nature des tissus visés sont difficiles à apprécier et nécessite une bonne compréhension pour une optimisation du traitement thérapeutique. Par ailleurs, le photosensibilisateur idéal doit répondre à des plusieurs critères [11-14]:

- être totalement atoxique en absence de lumière ;

[11] L. B. Josefsen, R.W. Boyle, *British J. Pharmacology*, **2008**, 154, 1.

[12] L. D. Via, S. M. Magno, *Curr. Med. Chem.* **2001**, 8, 1405.

[13] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, C. H. Sibata, *Photodiagn. Photodyn.*, **2004**, 1, 27.

[14] B. Bose, A. Dube, *J. Photochem. Photobiol.*, **2008**, 93, 32.

- être un composé pur ou mélange de composition chimiquement parfaitement définie ;
- avoir un rendement quantique en oxygène singulet élevé afin d'induire des réactions photochimiques importantes ;
- avoir une grande sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales afin de respecter les tissus sains avoisinants ;
- posséder une absorption optimale entre 650 et 800 nm, En effet, la profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus humains est maximale à ces longueurs d'onde;
- être de préférence amphiphile. Cette caractéristique va lui permettre de s'incorporer dans les organites cellulaires, hydrophiles comme les lysosomes et hydrophobes comme les mitochondries;
- solubilité adéquat au liquide corporel pour assurer le transport jusqu'à cellule néoplasique.

II-2-2- Les photosensibilisateurs de première génération

L'hématoporphyrine (Hp) et ses dérivés, l'hématoporphyrine dérivée HpD (mélange complexes de diverses porphyrines) [15] et le Photofrin II[®] constituent la première génération des photosensibilisateurs.

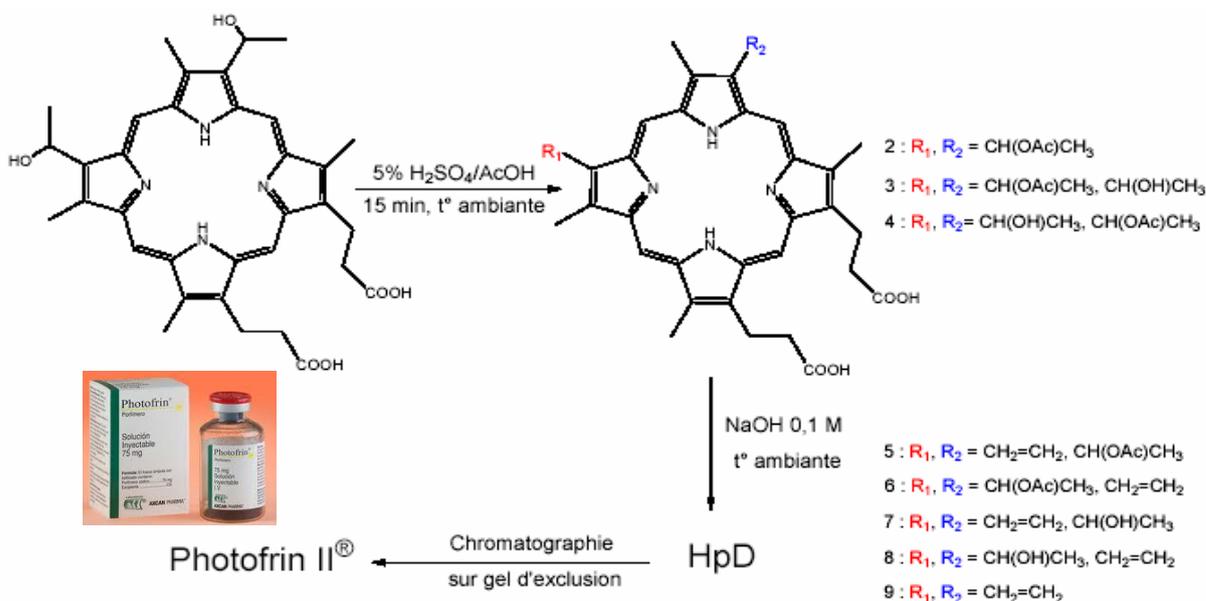


Schéma 1 : Méthode de préparation du Photofrin II[®]

[15] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, 90, 889-905.

Le Photofrin II® a une photocytotoxicité efficace, mais il présente certaines limites :

- Ses propriétés pharmaceutiques sont difficiles à étudier, car il n'est pas un composé chimiquement pur [16].
- Il ne présente qu'une faible absorption à 630 nm. De plus, après injection, il s'accumule dans l'épiderme et s'élimine lentement de l'organisme sont à l'origine d'une forte sensibilité cutanée. Le port de vêtements de protection et de lunettes de soleil est conseillé durant au moins deux mois après le traitement.

Ces limites ont amené les chercheurs à synthétiser de nouvelles molécules, dites de 2^{ème} génération, et dénuées de ces inconvénients.

II-2-3- Les photosensibilisateurs de deuxième génération

Les photosensibilisateurs de deuxième génération, présentent plusieurs avantages. Ces molécules ont une bonne capacité à générer ¹O₂, car ils ont un rendement de production d'oxygène singulier élevé. Ils s'éliminent également plus facilement que le Photofrin®. Par ailleurs, ce sont des composés purs.

Cette seconde génération de photosensibilisateurs comprend plusieurs familles de molécules telles que les porphyrines (*o*-THPP), les chlorines (Foscan), les bactériochlorines, les phthalocyanines, les texaphyrines (Lutrin), ou encore les précurseurs des porphyrines endogènes comme (Acide 5-aminolevunique ou 5-ALA).

Parmi les porphyrines de 2^{ème} génération, deux composés ont été particulièrement étudiés: la 5,10,15,20-tétrakis-(3-hydroxyphényl)porphyrine ou *m*-THPP et la 5,10,15,20-tétrakis-(4-sulfonatophényl)porphyrine ou *p*-TPPS₄ (figure 5).

[16] R.K.Pandey, D.F. Majchzycki, K.M. Smith, T.J. Dougherty, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **1990**, 19, 405-414.

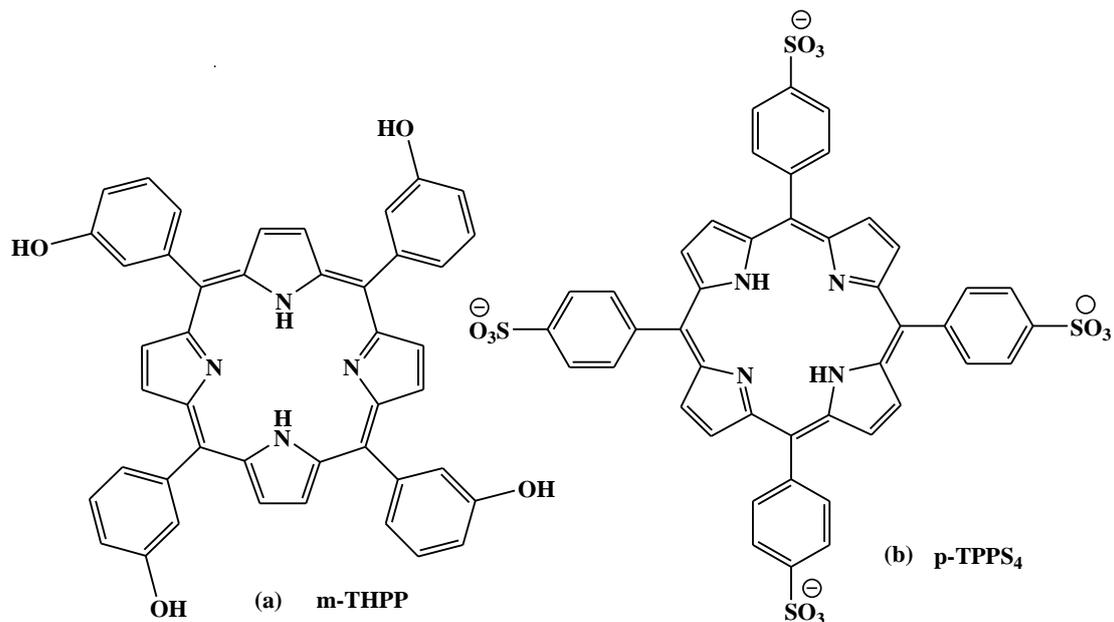


Figure 5: Structures de *m*-THPP et de *p*-TPPS₄

La 5,10,15,20-tétrakis(3-hydroxyphényl)chlorine, appelée *m*-THPC ou Foscan® est un photosensibilisateur plus active en PDT. Cet isomère a été identifié comme étant le plus actif des trois tétrahydroxyphénylchlorines possibles (ortho, méta et para) [17]. Cependant, le Foscan (figure 6) demeure un photosensibilisateur peu sélectif vis-à-vis des cellules cancéreuses. Ce composé s'est avéré néanmoins un bon candidat pour les traitements des cancers de la prostate ou du pancréas [18].

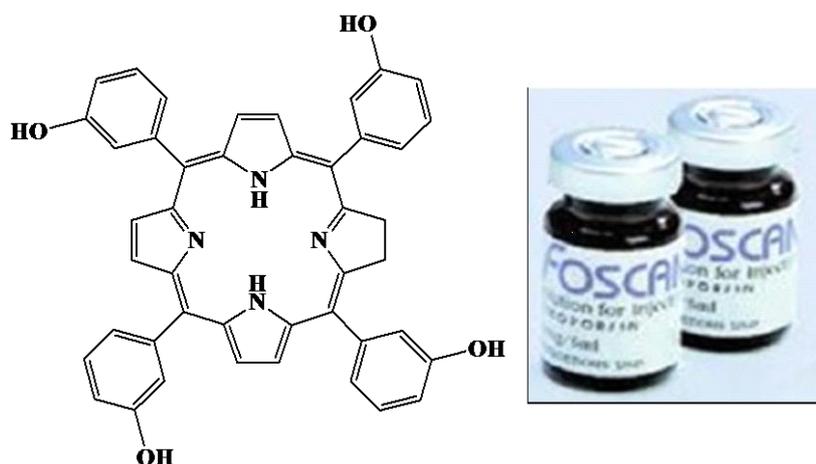


Figure 6 : Structure de *m*-THPC ou Foscan®

[17] R. Bonnett, R.D. White, U.J. Winfield, M.C. Berenbaum, *J. Biochem.*, **1989**, 261, 277-280.

[18] T. R. Nathan, D. E. Whitelaw, S. C. Chang, W. R. Lees, et al., *J. Urology*, **2002**, 168, 1427-1432.

Le dérivé monoacide de la benzoporphyrine (BPD-MA) commercialisé sous le nom de Visudyne[®], ce composé est essentiellement utilisé dans le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Cette maladie de la rétine, qui peut mener à la cécité [19], atteint principalement les personnes âgées. La DMLA est caractérisée par la prolifération de vaisseaux sanguins anormaux sous la rétine, ce qui entraîne l'apparition d'une tache centrale dans le champ visuel. L'administration intraveineuse de la Visudyne[®] suivi d'un traitement laser permet de détruire sélectivement les cellules endothéliales des néocapillaires.

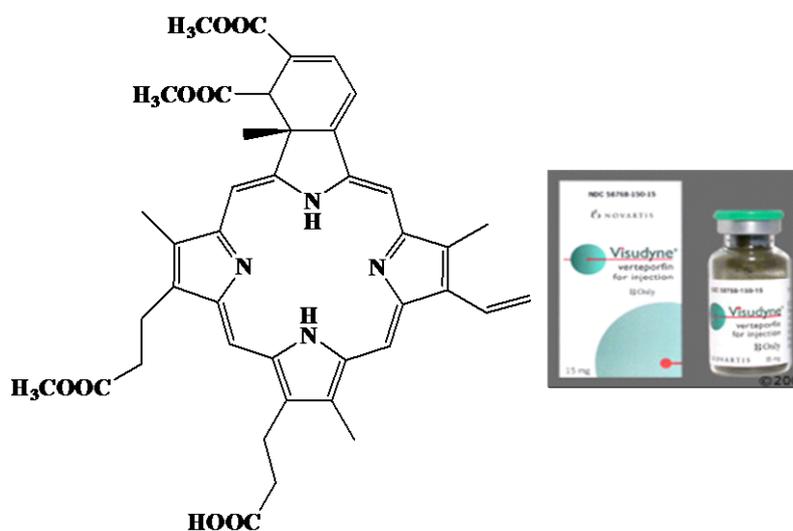


Figure 7: Structure du dérivé monoacide de la benzoporphyrine (BPD-MA)

L'acide 5-amino-lévilinique (5-ALA) commercialisé sous le nom Levulan[®] est un précurseur dans la biosynthèse de la protoporphyrine IX puis l'hème [20]. La protoporphyrine IX (Pp IX) est actuellement utilisée pour les traitements en PDT des cancers cutanés et gastro-intestinal, des lésions précancéreuses [21,22].

[19] S.C. Lin, C.P. Lin, J.R. Feld, *Curr. Eye Res.*, **1994**, 13, 513-522.

[20] H. Fukuda, A. Casas, A. Battle, *J. Biochem. Cell Biol.* **2005**, 37, 272- 276.

[21] J. Webber, D. Kessel, D. Fromm, Yale, *J. Biol. Med.*, **1997**, 70, 127-137.

[22] M. Ochsner, *Arzneimittelforschung*, **1997**, 47, 1185-1194.

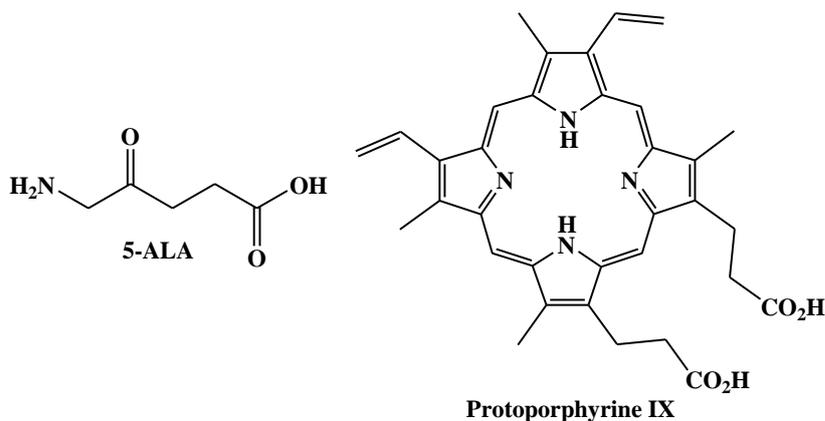


Figure 8 : Structure de la protoporphyrine IX et de l'acide 5-amino-lévulinique

Les photosensibilisateurs de deuxième génération marquent d'importantes avancées thérapeutiques surtout en termes de profondeur de l'effet thérapeutique (forte absorption à la lumière rouge). Cependant ces agents manquent encore de sélectivité. De ce fait le greffage sur le macrocycle de substituant d'adressage se révèle être une excellente approche. Ainsi ces composés présentant une certaine affinité et spécificité vis-à-vis des sites tumoraux représentent la dernière génération de photo-sensibilisateurs.

II-2-4- Les photosensibilisateurs de troisième génération

Les photosensibilisateurs de troisième génération regroupent en grande majorité des porphyrines de type *méso* substituées par des motifs de vectorisation et d'adressage. Ces motifs sont généralement des biomolécules (stéroïdes, des sucres, des amines, des acides aminés ou peptides) qui peuvent être reconnus spécifiquement par les cellules cancéreuses. Un exemple des *méso*-porphyrines glycosylées portant un acide aminé (alanine). Cette approche permet de cibler les sites de transport des acides aminés essentiels [23].

[23] V. Sol, J. C. Blais, V. Carre, R. Granet, M. Guilloton, M. Spiro, P. Krausz, *J. Org. Chem*, **1999**, 64, 4431-4444.

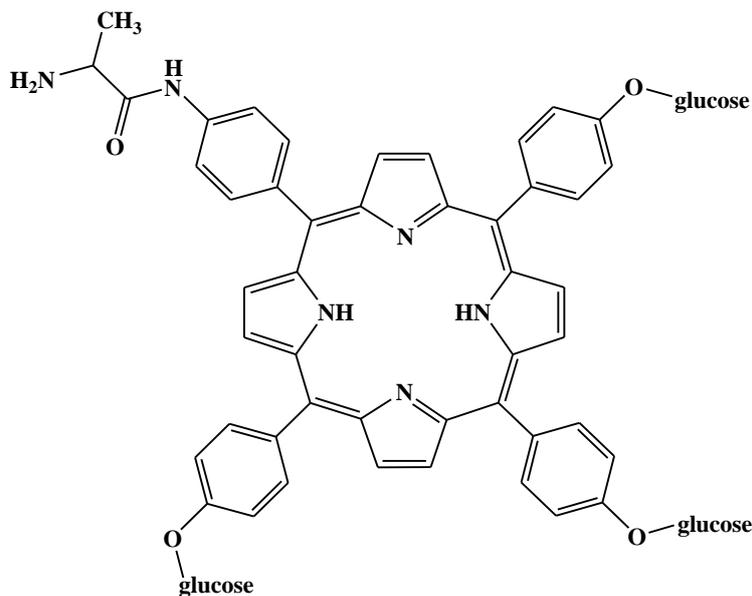


Figure 9 : Porphyrine triglycosylée portant un résidu alanine

Comme nous l'avons vu précédemment, les porphyrines ont un vaste champ d'application en photothérapie dynamique, une mise au point bibliographique sur la synthèse, les propriétés physicochimiques et l'étude de la réactivité des porphyrines vis-à-vis de différents dipôles s'avère donc primordiale sur ces composés.

III- Généralités sur les porphyrines

III-1- Structure

Les porphyrines, macrocycles constitués de quatre unités pyrroliques liées entre elles par des ponts méthines (Figure 10), sont une grande famille de molécules très répandues dans le milieu du vivant sous une forme libre, celles-ci sont appelées «bases libres». Elles peuvent également être métallées par de très nombreux métaux, donnant naissance aux «métalloporphyrines». Elles peuvent être partiellement réduites (une double liaison) pour former des chlorines (**c**). Lorsque deux doubles liaisons sont hydrogénées, on parle alors de bactérochlorines (**d**) ou d'isobactérochlorines (**e**).

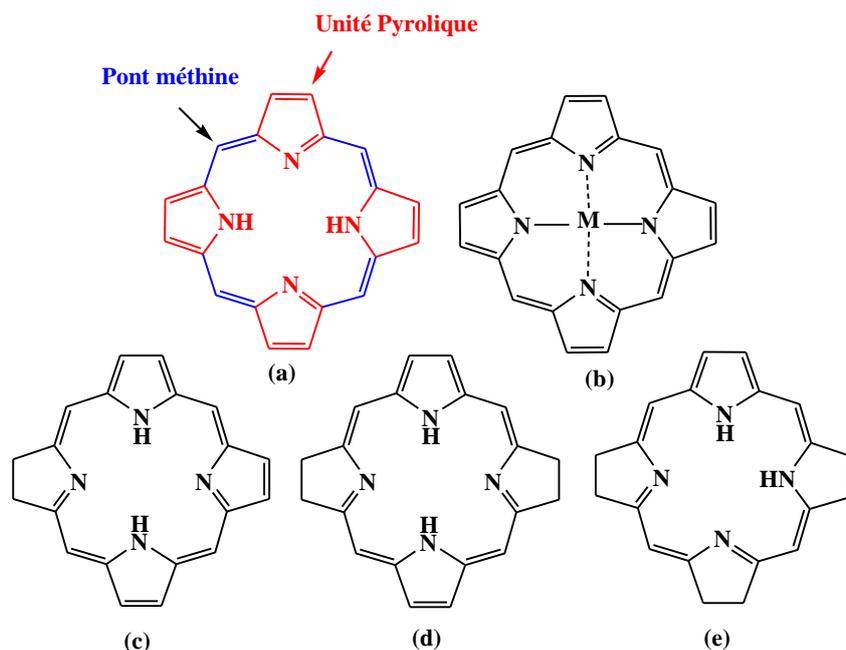


Figure 10: Les différentes classes de porphyrines: (a) porphyrine base libre, (b) porphyrine métallée, (c) chlorine, (d) bactérochlorine, (e) isobactérochlorine

Hans Fischer [24] a présenté, dans les années trente, le premier système de nomenclature des porphyrines (figure 11). Les atomes de carbone en position β -pyrroliques sont numérotés de 1 à 8, tandis que les ponts méthines, aussi appelés «*méso*», sont numérotés α , β , γ et δ . Les atomes d'azote n'ont pas de numéros.

Face à la complexité des porphyrines synthétisées, une numérotation systématique du macrocycle s'est avérée nécessaire afin de simplifier la nomenclature de ces molécules [25]. Les carbones méso portent alors les numéros 5, 10, 15, 20, les positions α et β des cycles pyrroliques sont notées respectivement 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 et 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 et enfin les numéros 21, 22, 23, 24 ont été attribués aux quatre atomes d'azote.

[24] a) L. R. Migrom; *Oxford Univ. Press*, **1997**, 249-260.

b) F. Lamarche, Thèse Université de Limoges, France, **2004**

[25] H. B. F. Dixon, A. Cornish-Bowden, C. Liebecq, K. L. Loening, G. P. Moss, J. Reedijk, S. F. Velick, P. Venetianer, J. F. G. Vliegthart ; *Pure Appl. Chem.*, **1987**, 59, 779-832.

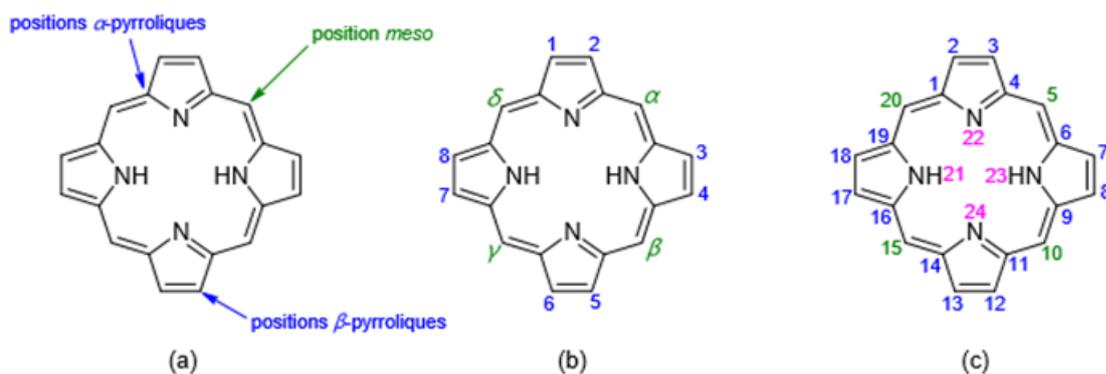


Figure 11: (a) Appellation générale, (b) Nomenclature de Fischer, (c) Nomenclature systématique

III-2- Méthode de synthèse des *méso*-porphyrines

On distingue deux grandes catégories de substitutions des porphyrines. Les porphyrines substituées sur les positions β -pyrroliques, qui s'apparentent aux porphyrines naturelles et les porphyrines substituées sur les positions méso. Dans ce travail, nous nous sommes exclusivement intéressés aux porphyrines de type *méso*.

De nombreuses stratégies de synthèse ont été mises au point, on peut les classer en quatre grandes catégories: La méthode de Rothemund, la synthèse «2+2» [26], arylation des porphyrines [27], et synthèse sur support solide [28]. Dans nos travaux, nous avons utilisé la méthode de Rothemund modifiée.

La méthode de Rothemund

En 1935, Rothemund décrit la synthèse de la première porphyrine symétrique substituée en position méso [29]. Il obtient la *méso*-tétraméthylporphyrine en faisant réagir, sous atmosphère inerte, de l'acétaldéhyde et du pyrrole dans le méthanol à diverses températures. Il synthétise ensuite de nombreuses porphyrines portant comme substituants des groupes propyl, butyl et phényle en utilisant les aldéhydes correspondants. Ces synthèses se caractérisent toutes par des rendements très faibles. En 1941, Rothemund [30] obtient un rendement de 5% lors de la synthèse de 5,10,15,20-tétraphénylporphyrine en faisant réagir de pyrrole et du benzaldéhyde dans la pyridine dans une ampoule scellée chauffée à 220°C.

[26] G.P.Arsenault, E. Bullock, S.F. MacDonald, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4384- 4389.

[27] D.F. Shi, R.T. Wheelhouse; *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 9341-9342.

[28] J.M. Montierth, A .G. Duran, S. H. Leung, K.M. Smith, N.E. Schore; *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41,7423-7426.

[29] P. Rothemund, *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 57, 2010-2011.

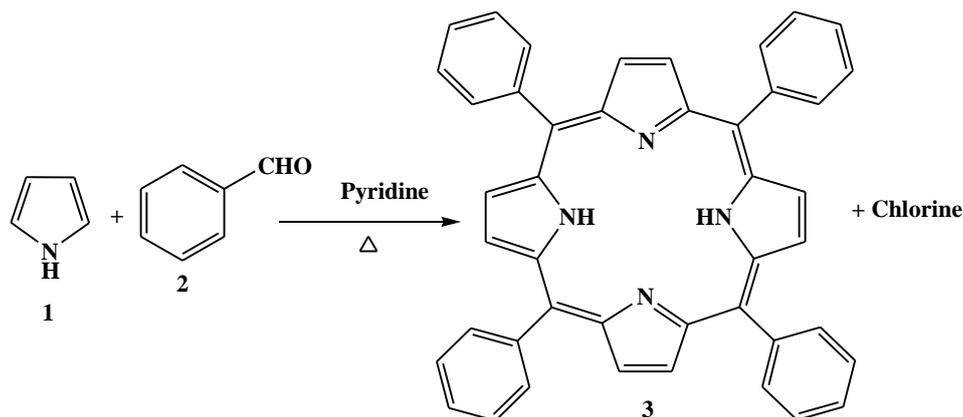


Schéma 2: Méthode de Rothemund appliquée à la synthèse de la *méso*-tétraphénylporphyrine

Ce type de composé présentant un fort intérêt, de nombreuses équipes ont ensuite cherché à améliorer le rendement de synthèse. Adler et Longo [31] ont mis au point une méthode de condensation d'aldéhyde et de pyrrole. La méthode consiste à condenser le benzaldéhyde et le pyrrole dans l'acide propionique porté à reflux. Cette technique permet d'obtenir un rendement de synthèse de la *méso*-tétraphénylporphyrine de l'ordre de 20%, mais également la synthèse de nombreuses autres *méso*-tétraarylporphyrines symétriques.

La possibilité d'utiliser ce type de synthèse pour développer des *méso*-arylporphyrines non symétriques a été décrite par Little en 1975 [32]. Cette méthode, dites des «aldéhydes mixtes», est similaire à celle d'Adler et Longo, mais cette fois-ci, deux aldéhydes différents sont condensés avec pyrrole dans l'acide propionique. En fonction des proportions stœchiométriques utilisées, il est possible d'obtenir des porphyrines substituées par deux, trois ou quatre groupements identiques. L'inconvénient majeur de cette méthode est la présence de nombreuses réactions de polymérisation qui rendent la purification difficile.

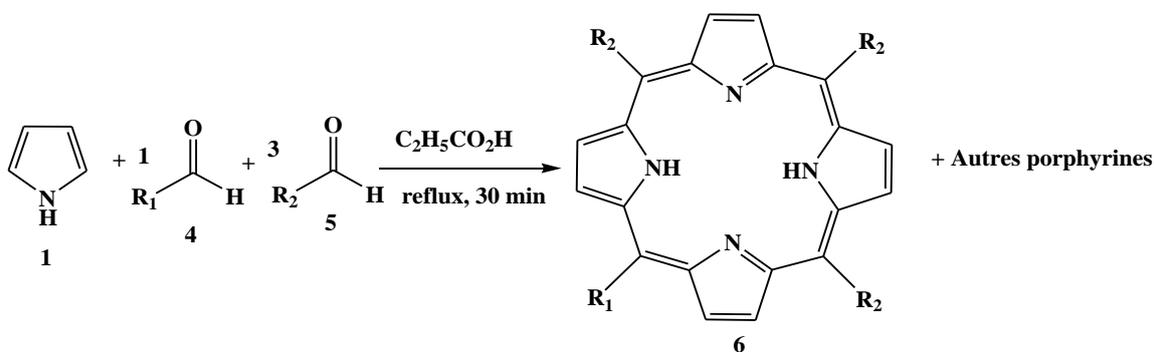


Schéma 3: Méthode dite des aldéhydes mixtes

[30] P. Rothemund, A.R. Menotti, *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, 63, 267-270.

[31] A.D. Alder, F.R. Longo, J.D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476.

[32] R.G. Little, J. A. Anton, P.A. Loach, J. Ibers, *J. Heterocycl. Chem.*, **1975**, 12, 343-349.

Finalement une méthode de synthèse réellement douce a été décrite par Lindsey [33]. La condensation du pyrrole et de l'aldéhyde est réalisée par catalyse acide (BF_3OEt_2 ou acide trifluoroacétique) la molécule obtenu est le porphyrinogène, un cycle tétrapyrrolique non conjugué. La conversion en porphyrine est réalisée à l'aide d'un oxydant tel que le DDQ. Le rendement de la réaction est significativement amélioré et atteint 46% pour *méso*-tétraphénylporphyrine. Cette méthode a également été adaptée pour la synthèse de porphyrines asymétriques.

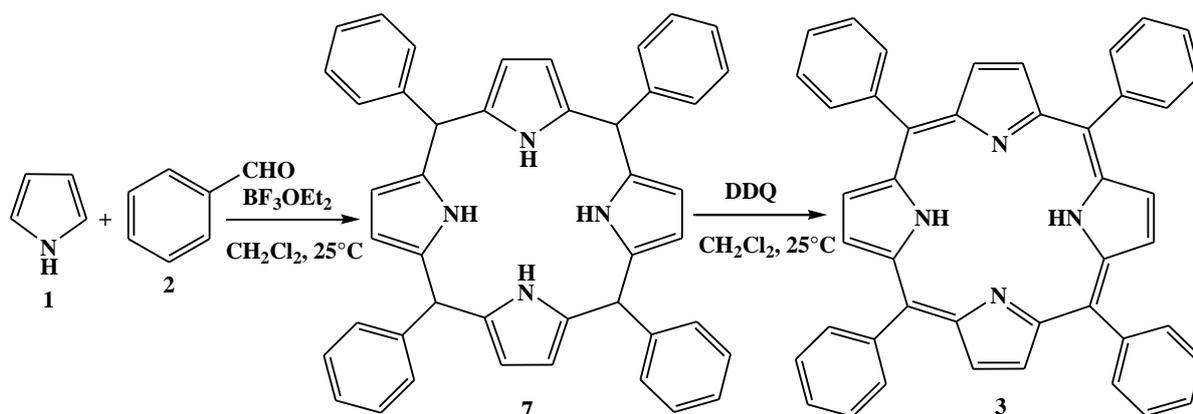


Schéma 4: Méthode de Lindsey

III-3- Caractérisation des porphyrines

III-3-1- Spectroscopie UV-visible

Afin d'évoquer leur très forte coloration et la grande stabilité, les porphyrines possèdent un système à 18 électrons π fortement conjugué. Ces molécules absorbent donc dans le domaine du visible et présentent des spectres d'absorption très caractéristiques qui sont fonction de la structure et de la présence ou non d'un métal (Figure 12). Ils se composent d'une bande intense entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande de Soret ou bande B, et quatre bandes de moindre intensité aux plus grandes longueurs d'ondes (entre 500 et 680 nm) nommées bandes Q pour les porphyrines base libre.

La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structure, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants.

[33] J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 827.

En plus d'un spectre d'absorption caractéristique, les porphyrines ont des propriétés d'émission lumineuses au delà du 600 nm. Cette propriété permet la détection des zones de plus forte accumulation de photosensibilisant, comme nous l'avons déjà vu le photodiagnostic est un outil de dépistage précoce de tumeur permet d'augmenter le taux de guérison.

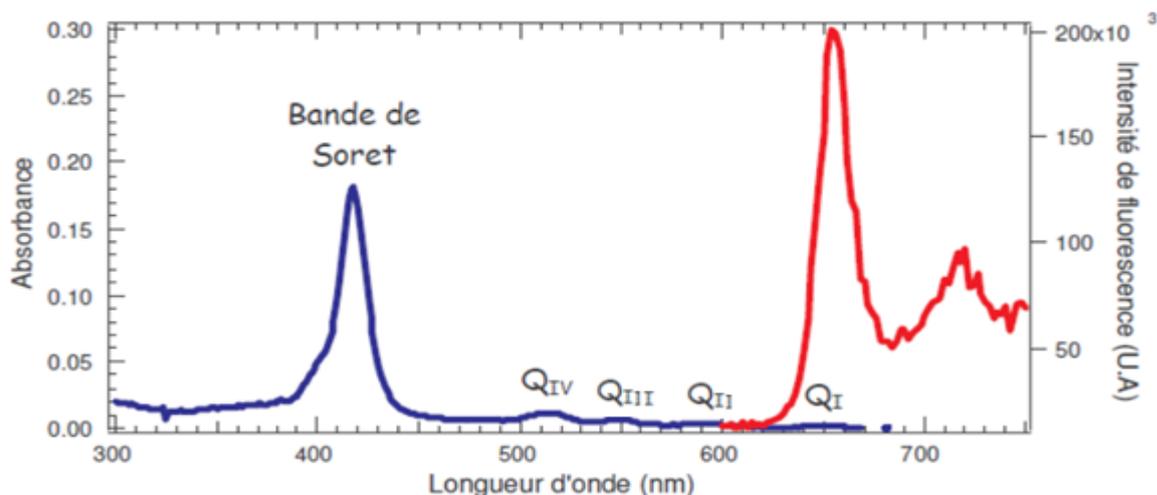


Figure 12 : Spectres d'absorption et de fluorescence typiques d'une porphyrine [34]

III-3-2- Spectroscopie RMN du proton

La Résonance Magnétique Nucléaire du proton appliquée aux macrocycles porphyriniques fournit des spectres très caractéristiques. En effet, le courant de cycle généré par le champ magnétique (imposé par l'appareil) induit un important cône d'anisotropie magnétique dont l'axe est perpendiculaire au plan du macrocycle (figure 13). Ainsi, les protons à l'intérieur de ce cône sont blindés alors que les protons situés à l'extérieur, dans le plan de la molécule, sont fortement déblindés. Le spectre RMN est alors étendu sur une large zone de plus de 15 ppm.

[34] B. D. Stasio, Thèse Institut National Polytechnique de Lorraine, France, 2006.

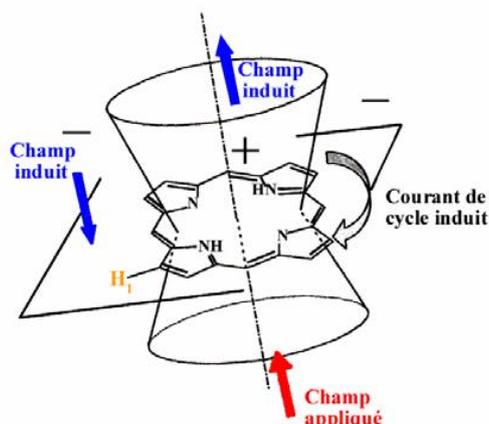


Figure 13 : Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Le spectre RMN ^1H de la porphyrine est constitué en générale des signaux principales suivants: un signal entre -2 ppm et -4 ppm attribués aux protons internes liés aux atomes d'azote, entre 8 ppm et 10 ppm correspondants aux protons des positions β -pyrroliques [35]. Les protons méthine (position *méso*) sont liés à des carbones essentiellement déficients en électrons, ils sont plus déblindés que les protons β -pyrroliques. Exemple RMN ^1H de porphyrine sans aucun substituant (figure 14).

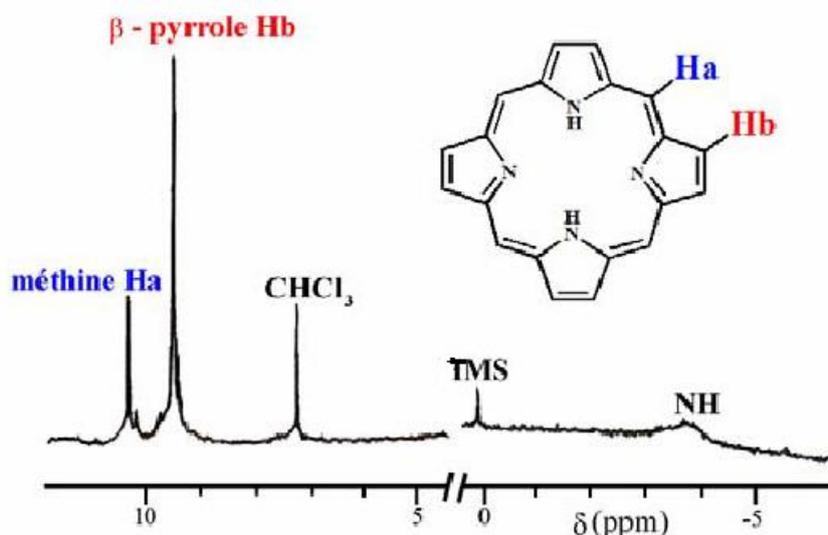


Figure 14 : Spectre RMN ^1H de la porphyrine dans CDCl_3 [24b].

[35] K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, "The Porphyrin Handbook - Applications: Past, Present and Future", Academic Press: Nova Iorque, 2000; Vol. 1.

III-3-3- Spectroscopie de Masse

Les porphyrines se caractérisent par une très faible volatilité, c'est pourquoi les techniques classiques d'ionisation ne sont généralement pas adaptées. Il est nécessaire d'utiliser les méthodes de désorption/Ionisation Laser Assistée par Matrice connu sous l'abréviation MALDI, le mode ESI (Electro Spray Ionisation) est aussi utilisable pour telle structures et permet d'obtenir l'ion moléculaire.

IV- Etude de la réactivité des porphyrines vis-à-vis de différents dipôles

Au cours des dernières années, des études importantes ont été réalisés sur la synthèse de nouvelles porphyrines condensées à des hétérocycles à cinq chaînons via les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 des porphyrines. Les porphyrines peuvent participer à des réactions de cycloaddition comme dipôles ou dipolarophiles. Avant d'exposer nos résultats, nous rapportons les travaux décrits dans la littérature pour la synthèse des porphyrines condensés via la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3.

J. Cavaleiro et son équipe ont été les pionniers dans l'étude de la réactivité des porphyrines vis-à-vis des dipôles. La première réaction de ce type a été publiée en 1999 [36], lorsque le groupe a réussi de synthétiser un cycloadduit de type chlorines **10** à partir de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de *méso*-tetrakis-arylporphyrines **8** avec l'ylure d'azométhine **9** à reflux de toluène (Schéma 5). Dans le cas de *méso*-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrine (TPFPP), deux cycloaddutis de type isobactéριοchlorines **11** et **12** issus d'une double addition du dipôle ont été identifiés. L'ylure azométhine **9** est générée in situ par condensation de *N*-méthylglycine avec le paraformaldéhyde.

[36] A. M. G. Silva, A. C. Tomé, M. G.P.M.S. Neves, A.M.S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, *Chem. Commun.* **1999**, 1767-1768.

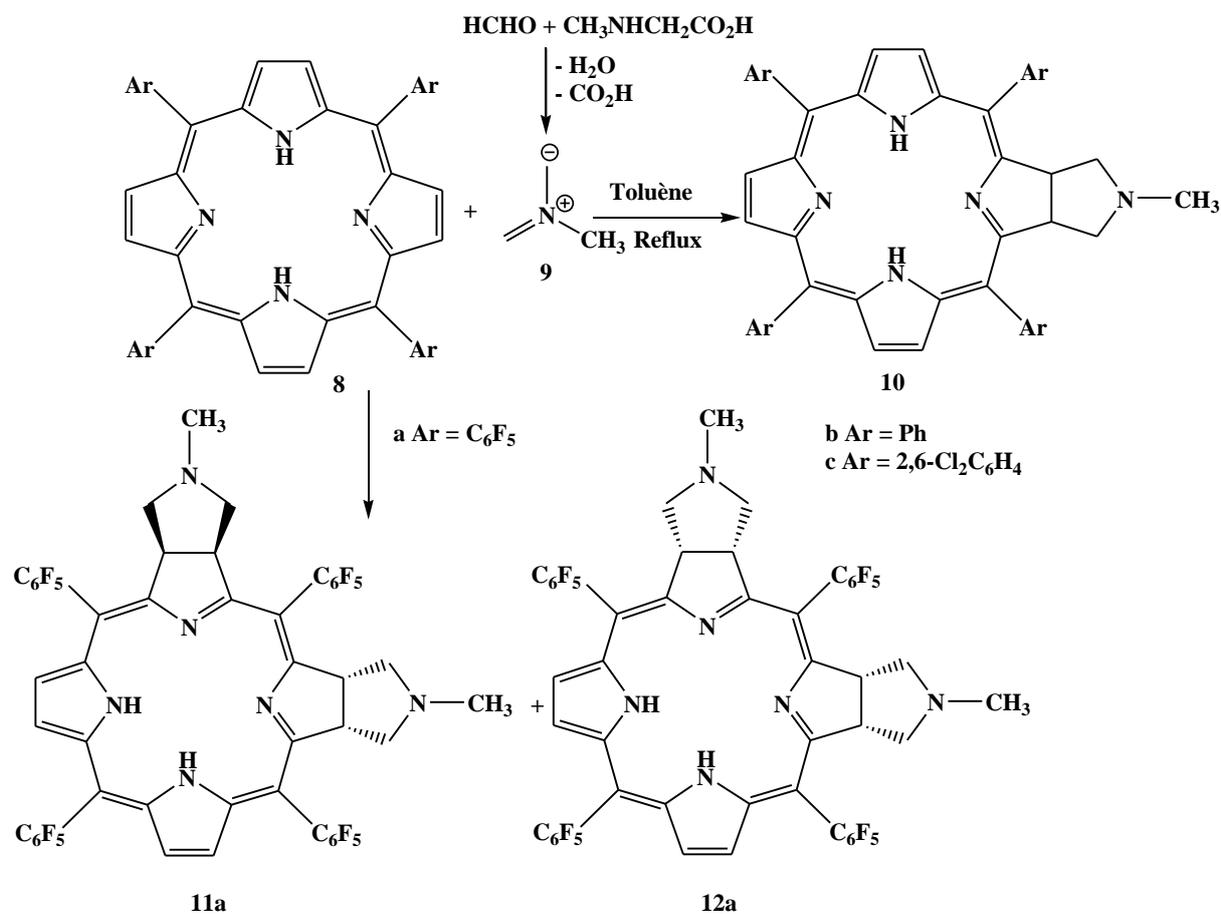


Schéma 5

Les mêmes conditions opératoires citées précédemment appliquées sur les *méso*-tétraarylporphyrines de type A₃B **13** ont permis d'isoler un mélange d'isomères de cycloadduits de type pyrrolidine chlorines **14** et **15** (Schéma 6). [37]

[37] Zhao Shengxian, Doctorat Université d'Aveiro, Portugal **2005**.

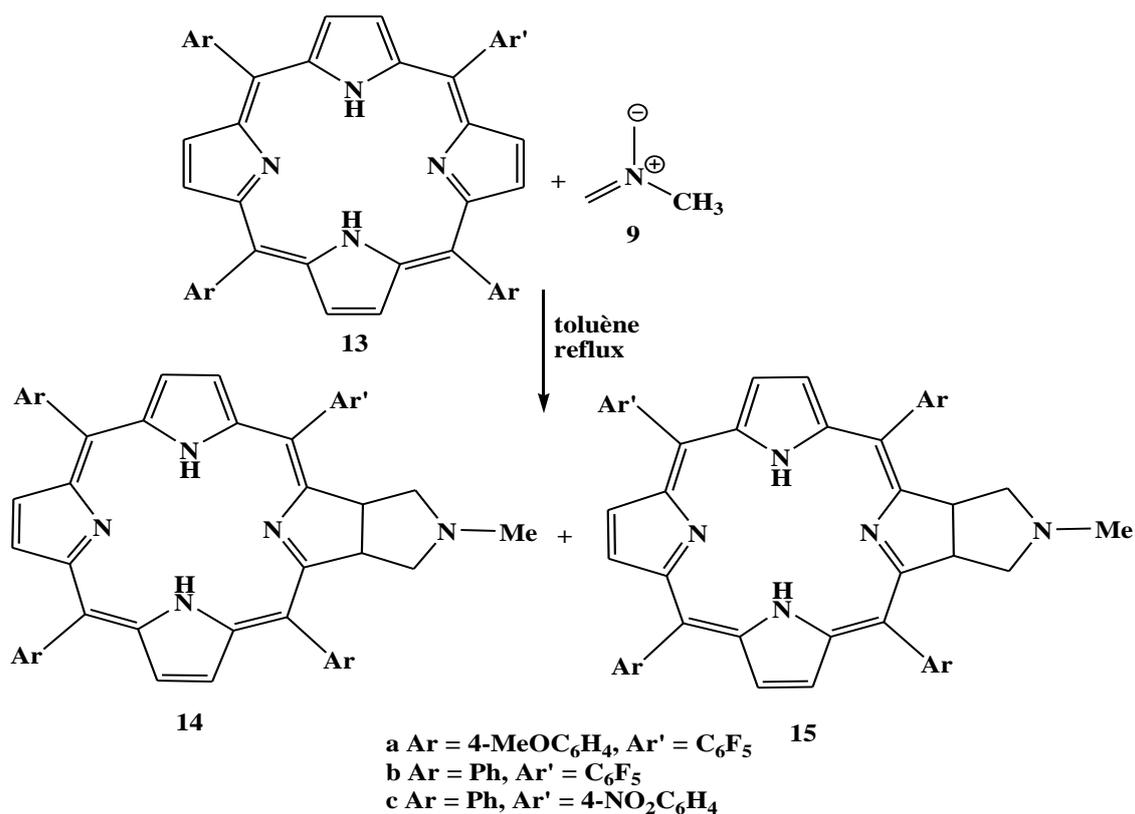
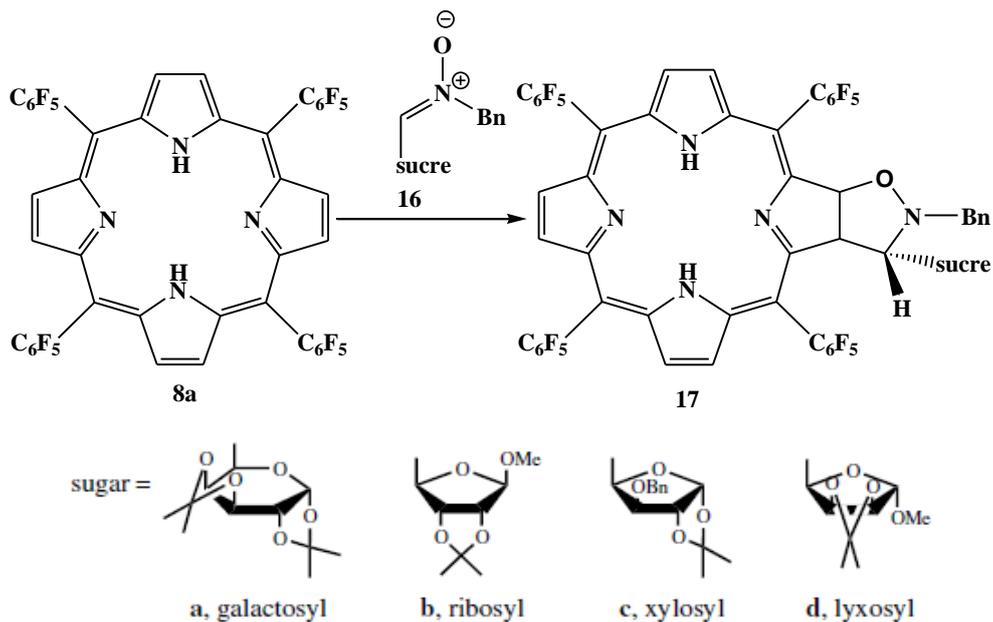


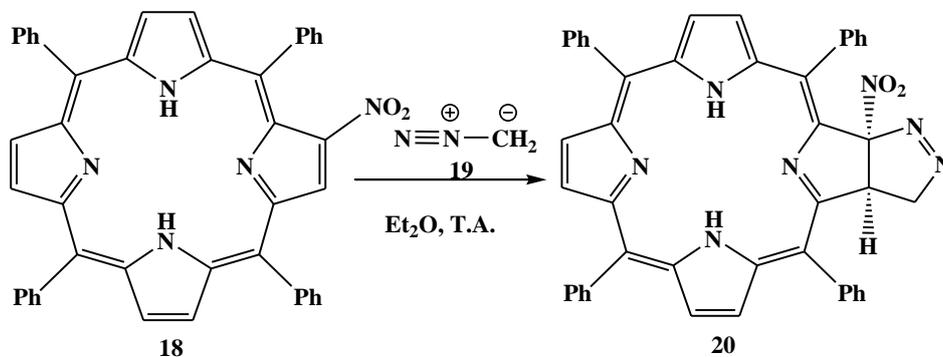
Schéma 6

En 2002, le même groupe [38] a décrit la synthèse des isoxazolidine-chlorines **17** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine **8a** avec le nitroène **16** (Schéma 7).

[38] A. M. G Silva, A. C Tomé, M. G. P. M. S Neves, A. M. S Silva, J. A. S. Cavaleiro, D. Perrone, A. Dondoni, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 603-605.



A. Silva et coll. [39] ont réalisé la synthèse de pyrazoline-chlorine **20** par la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de β -nitro-*méso*-tétraphénylporphyrine **18** avec le diazométhane **19** dans l'éther diéthylique à température ambiante (Schéma 8).



La réactivité de *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine **8a** vis-à-vis de l'ylure carbonylé **21** préparé *in situ* à partir de α,α' (dichlorométhyl) éther en présence de PbCl_2 , Mn et NaI a été réalisée par Flemming et coll. [40]. La réaction a conduit à la formation d'un seul cycloadduit de type tétrahydrofurane chlorines **22** avec un rendement moyen (Schéma 9).

[39] A. M. G. Silva, A. C. Tomé, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *Synlett*, **2002**, 1155-1157.

[40] J. Flemming, D. Dolphin, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 728.

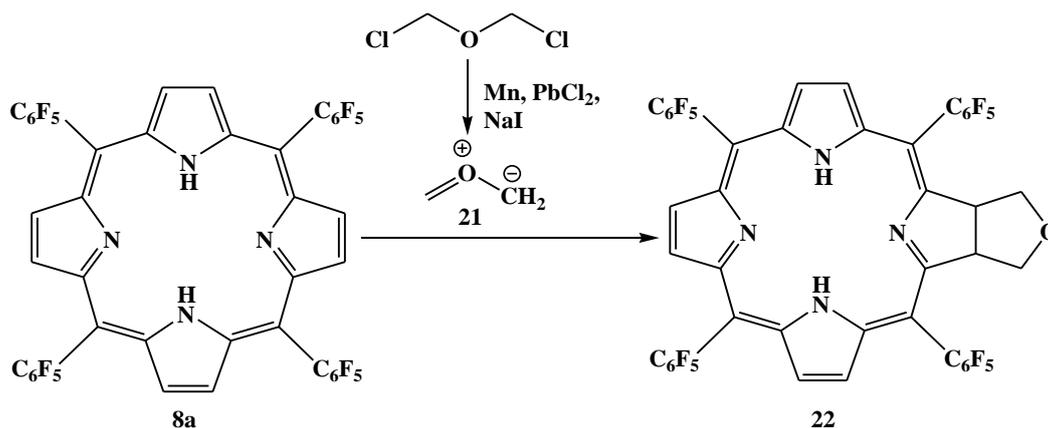


Schéma 9

Un autre dérivé de tétrahydrofurane chlorure **24** a été synthétisé par le même groupe de Fleming en condensant l'ylure de carbonyle **23** généré in situ à partir de l'oxyde de tétracyanoéthylène (TCNEO) avec le tétraphénylporphyrine TPP **8b** à reflux de toluène (schéma 10).

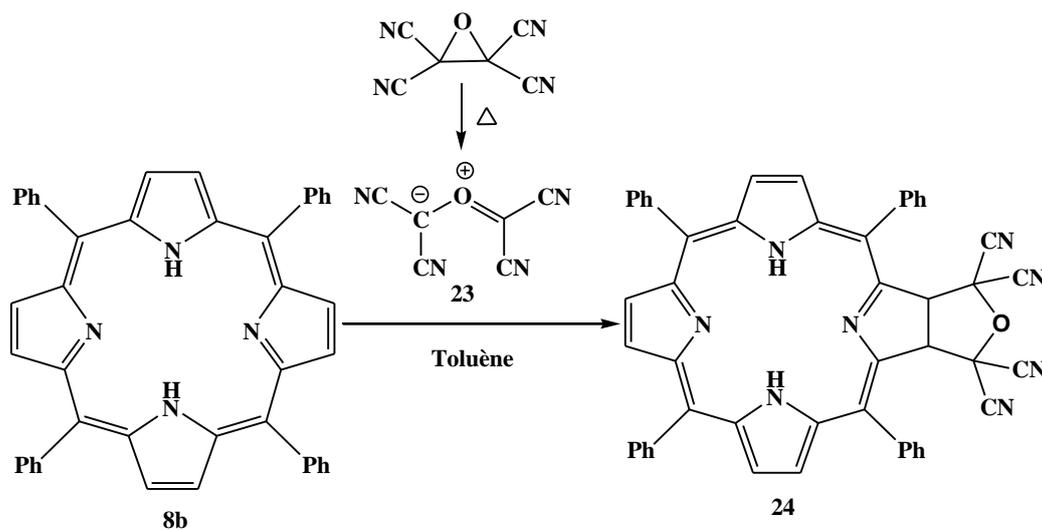


Schéma 10

En 2005, un groupe chinois [41] a réalisé la synthèse des isoxazoline-chlorures et des isoxasoline-bactérochlorures par réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de *méso*-tétraaryl porphyrine **25** avec l'oxyde 2,6-dichlorobenzonitrile **26** à reflux de benzène (Schéma 11).

[41] X. Li, J. Zhuang, Y. Li, H. Liu, S. Wang, D. Zhu. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 1555–1559.

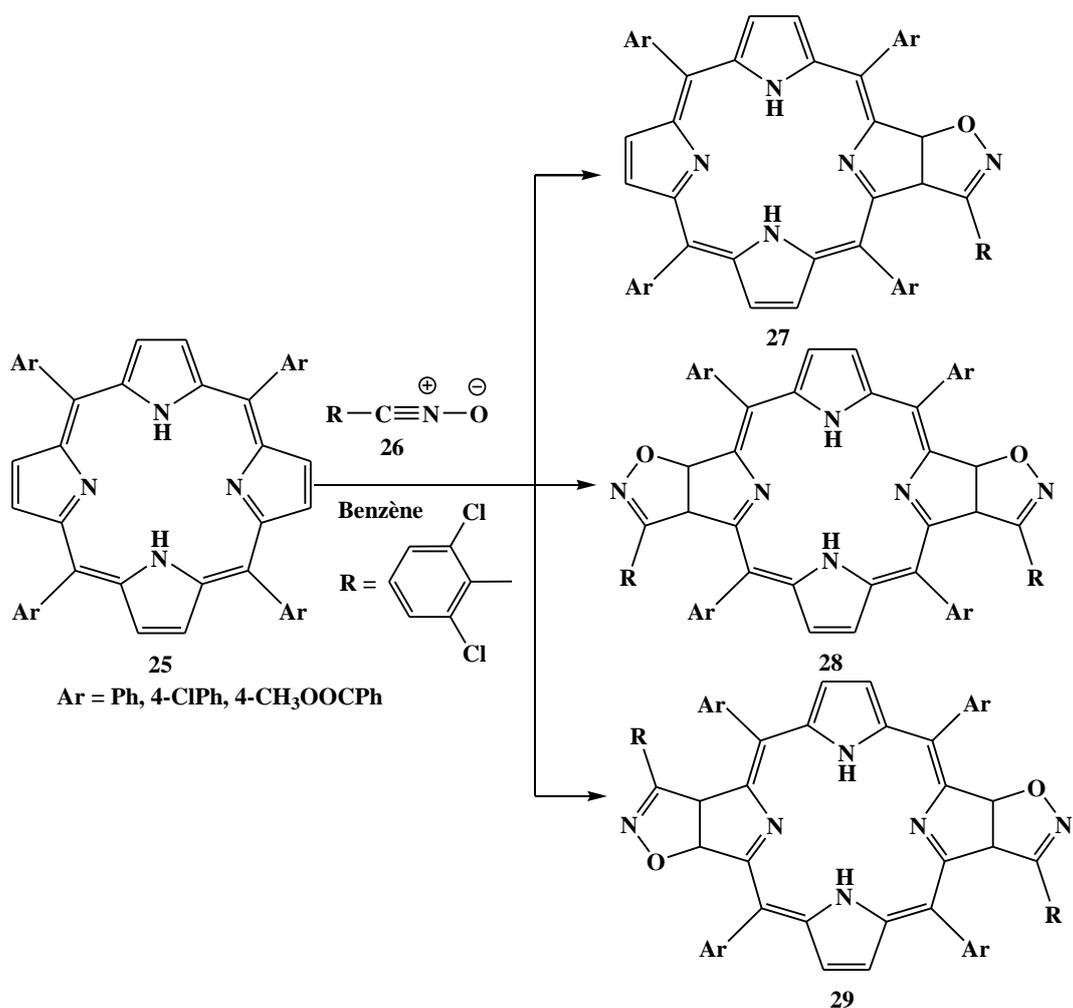


Schéma 11

Un résultat analogue a été observé lors de la condensation de l'oxyde 2,6-dichlorobenzonitrile **26** avec la 2-méthyl-*N*-confondu porphyrine **30** qu'est un isomère tétrapyrrolique de la porphyrine ordinaire. Les auteurs [42] obtiennent un mélange de deux cycloadduits majoritaires de type 2-méthyl-*N*-confondu isoxazolchlorines **31** et **32** avec un rendement globale de 82% et un biscycloadduit de type 2-méthyl-*N*-confondu isoxazol bactériochlorine **33** (Schéma 12).

[42] X. Li, B. Liu, X. Yu, P. Yi, R. Yi, P. J. Chmielewski. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 2431–2440.

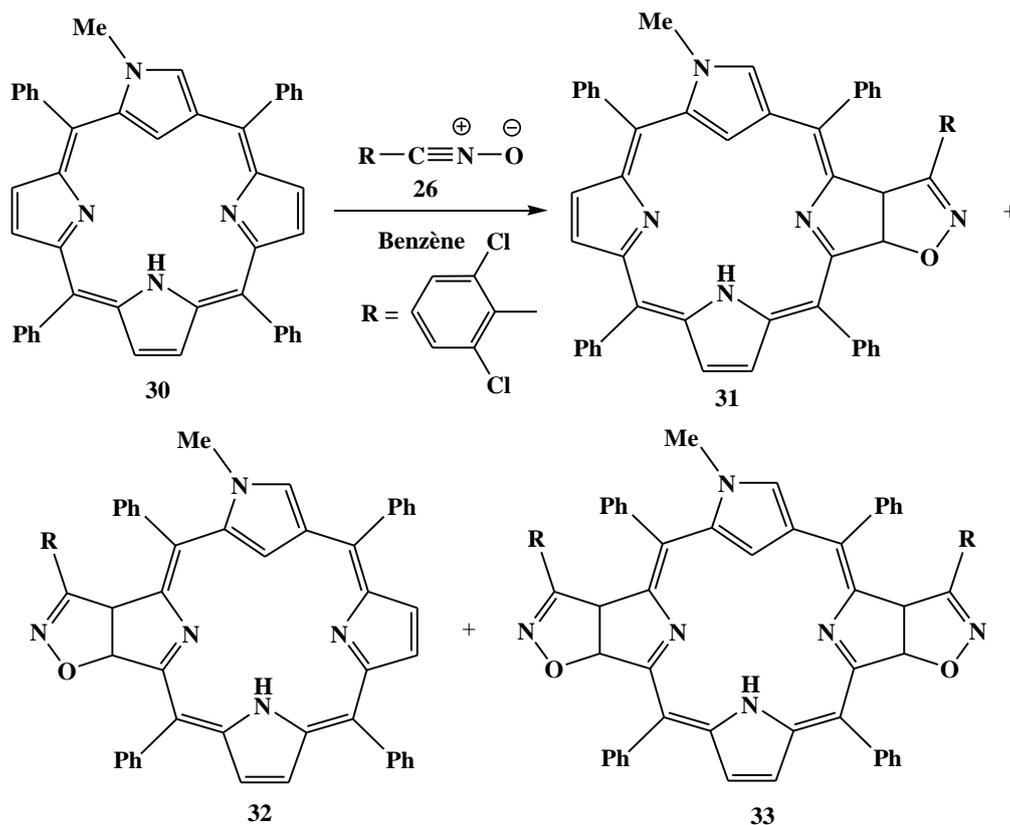


Schéma 12

La porphyrine a été utilisée aussi en tant que dipôle dans la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3, ainsi X.-G. Liu et coll. [43] ont étudié la réaction de cycloaddition de l'ylure azométhine porphyrine **35** préparé *in situ* à partir de Ni(II) β -formyl-mésotétraphénylporphyrine **34** en présence de *N*-méthylglycine avec l'isatin **36**. Un seul cycloadduit de type spiroporphyrine **37** a été identifié (Schéma 13).

[43] X.-G. Liu, Y.-Q. Feng, C.-J. Tan, H.-L. Chen. *Synthetic Commun.* **2006**, 36, 2655–2659.

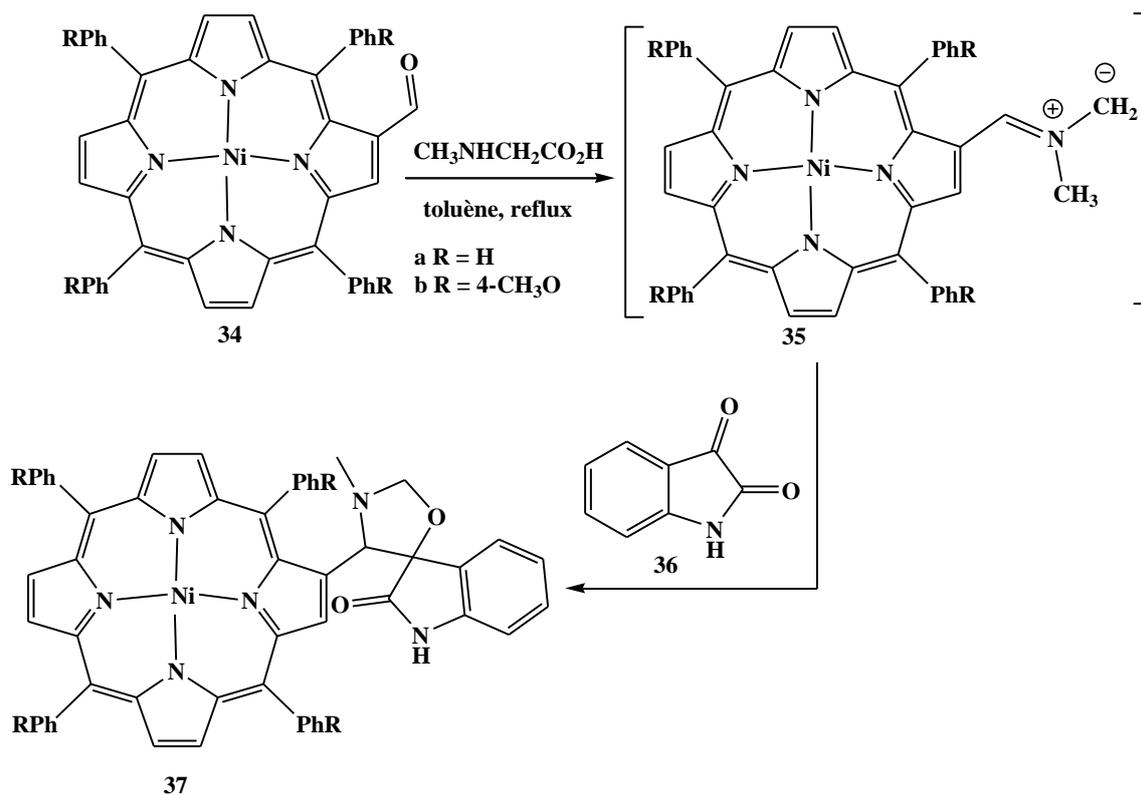


Schéma 13

En 2006, l'équipe de J. Cavaleiro [44] a étudié la réactivité de l'ylure azométhine porphyrine **35a** vis-à-vis de différents dipolarophiles : diméthyl fumarate, 1,4-naphthoquinone et 1,4-benzoquinone. Dans tous les cas, un seul cycloadduit a été identifié avec des rendements variés (schéma 14). L'ylure azométhine porphyrine est préparé *in situ* à partir de la réaction de condensation de *N*-(porphyrin-2-ylmethyl)glycine avec formaldéhyde.

[44] A. M. G. Silva, P. S. S. Lacerda, A. C. Tome, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, E. A. Makarova, E. A. Lukyanets. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8352-8356.

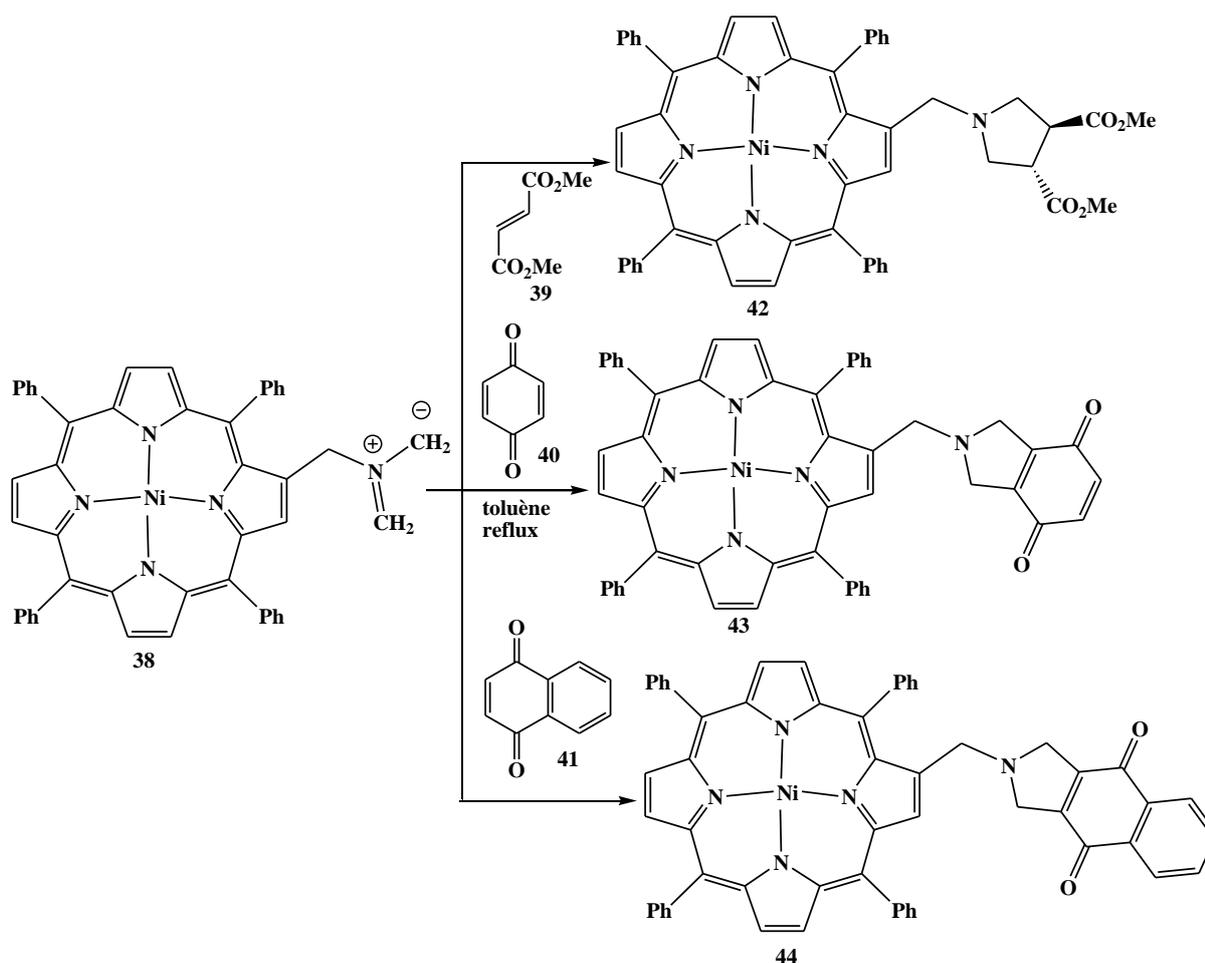


Schéma 14

Pour élargir cette étude de la réaction de cycloaddition des dérivés de la porphyrine à d'autres types de dipôles, en 2009, l'équipe de Rakib dans un projet de coopération FCT-Portugal/CNRST-Maroc avec l'équipe de J. Cavaleiro [45] ont étudié la réactivité de *méso*-tétrakis (pentafluorophényl)porphyrine **8a** vis-à-vis des *N*-aryl-C-ethoxycarbonylnitrilimines **46** générés *in situ* par déhydrobromination des éthyl hydrazono- α -bromoglyoxylates **45**. Ils ont synthétisé les pyrazolochlorins **47** avec des rendements modérés (Schéma 15). Plusieurs conditions ont été examinées pour améliorer le rendement des cycloadduits, y compris la température, le solvant et la base. Le rendement meilleur est obtenu par l'utilisation de K_2CO_3 à reflux de toluène.

[45] N. M. M. Moura, F. Giuntini, M. A. F. Faustino, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tomé, A. M. S. Silva, E. M. Rakib, A. Hannioui, S. Abouricha, B. Röder, J. A. S. Cavaleiro, *Arkivoc*, **2010**, (v), 24-33.

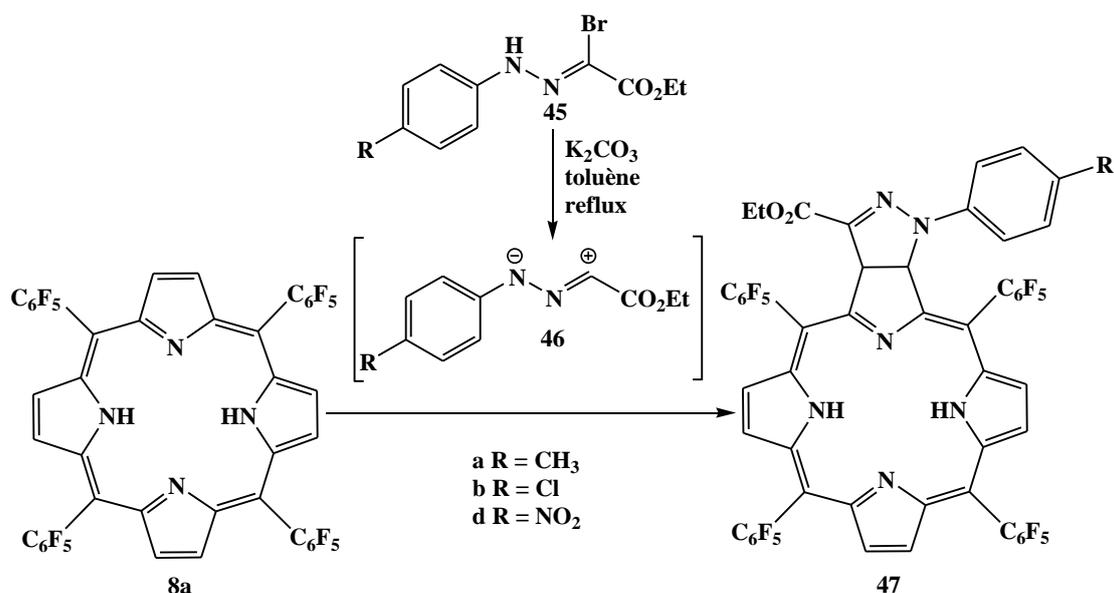


Schéma 15

Ces données bibliographiques montrent bien que le site dipolarophile C=C du pyrrole joue un rôle important dans la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de la porphyrine vis-à-vis de différents dipôles. Cette stratégie de synthèse a permis d'accéder à des pyrazoloporphyrines de type chlorins et bactérochlorins avec des rendements intéressants. Suite à ces travaux nous sommes intéressés dans le présent travail à développer la synthèse de nouveaux cycloadduits dérivés de la porphyrine en examinant la condensation des *N*-arylc-éthoxycarbonylnitrilimines avec d'autres sites dipolarophiles de la porphyrine afin de préparer de nouveaux systèmes hétérocycliques à visée anticancéreuse potentielle.

V- Cycloaddition des *N*-arylc-éthoxycarbonylnitrilimines avec d'autres dérivés de la porphyrine

Due à l'intérêt considérable sur les propriétés spectroscopiques et chimiques de dihydroporphyrins et de leurs applications potentielles en médecine comme drogues anti-tumorales, nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des *N*-arylc-éthoxycarbonylnitrilimines avec des vinyl- et propargyl *mésotetraarylporphyrines*.

V-1- Elaboration des dipôles : *N*-arylc-éthoxycarbonylnitrilimines.

Les dipôles que nous avons préparés et qui ont fait l'objet de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 avec les dérivés de la porphyrine sont regroupés dans la figure suivante :

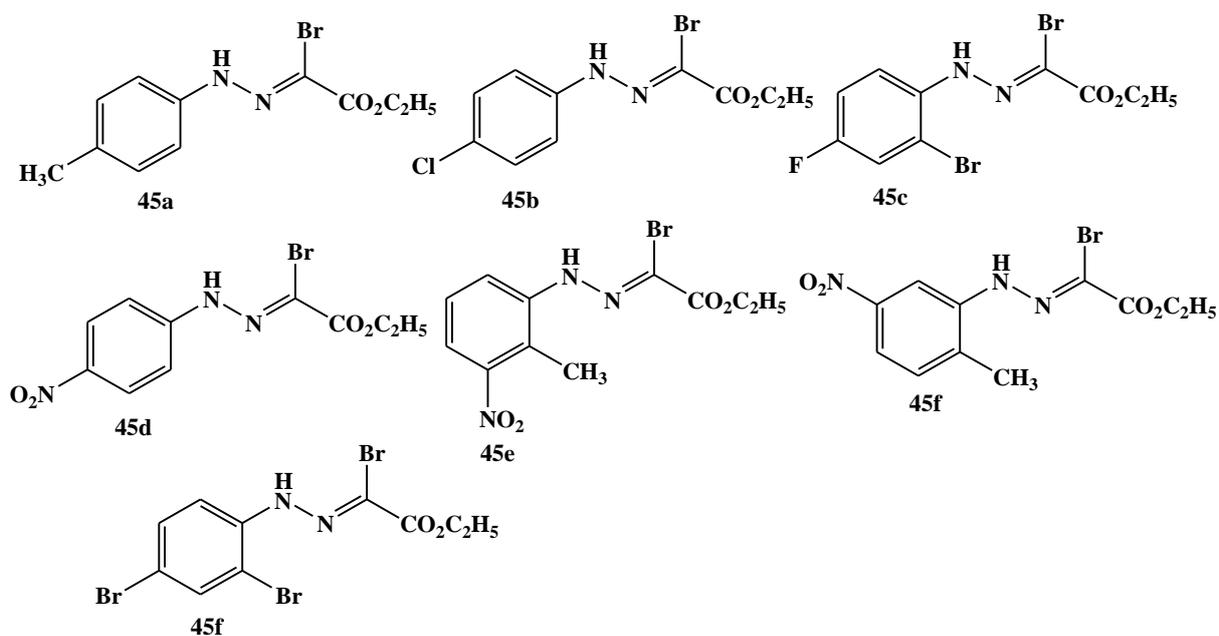


Figure 15 : Structures des précurseurs *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **45a-f**

V-2- Synthèse des dipolarophiles dérivés de la porphyrine

Nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **45a-f** avec deux types de porphyrine: les vinylporphyrines métallées ou protonées **49a-d** et la propargylarylporphyrine **50**.

Les 2-vinyl-5,10,15,20-tétraphénylporphyrin (2-vinyl-TPP) métallées ou protonées **49a-d** sont préparés à partir de 2-formyl-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine **48** selon la méthode décrite dans la littérature [46,47] (Schéma 16).

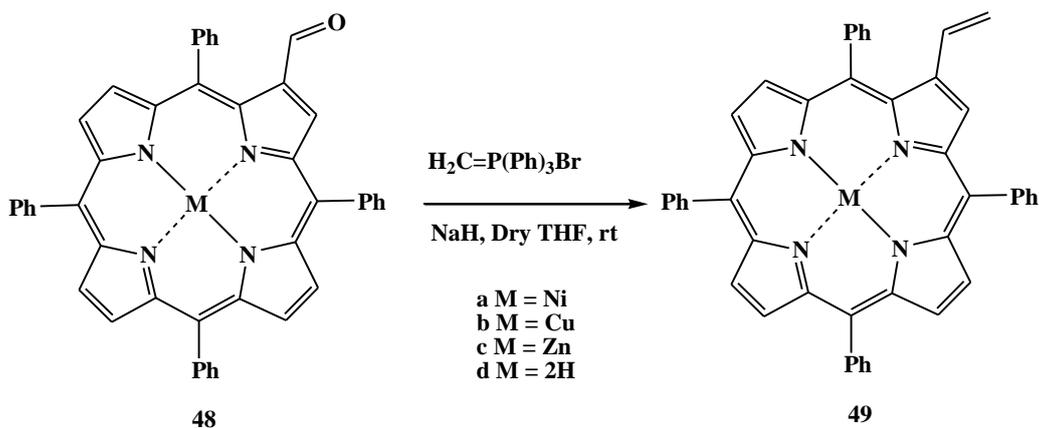


Schéma 16

[46] N. M. M.Moura, M. A. F. Faustino, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Duarte, J. A. S. Cavaleiro. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2011**, 15, 652-658.

[47] H. J. Callot. *Tetrahedron* **1973**, 29, 899-901.

Pour le *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine monopropargylé **50**, nous l'avons préparé à partir de la réaction de la *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine avec l'alcool propargylique, en présence de carbonate de potassium, dans la diméthylsulfoxyde à 50 °C selon la procédure décrite par l'équipe de J. Cavaleiro [48] (Schéma 17).

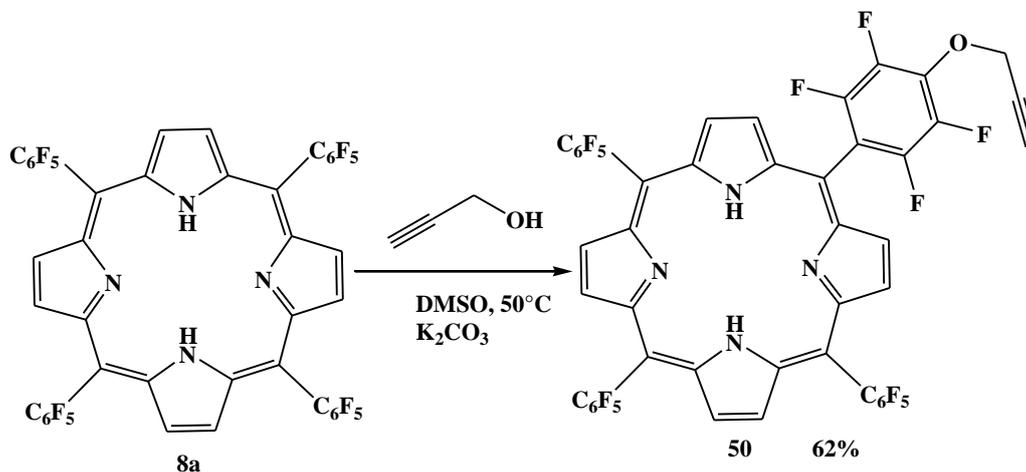


Schéma 17

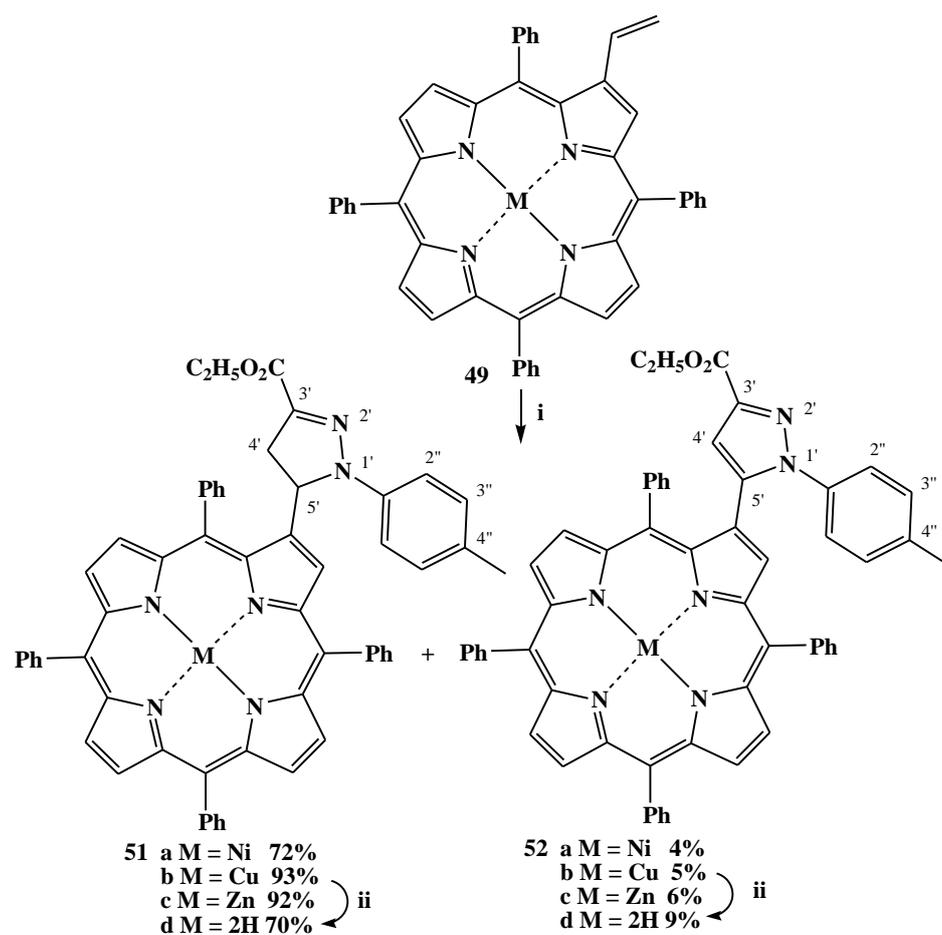
Le composé **50** présente les mêmes caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques que celui de la littérature [48].

V-3- Etude de l'addition des dipôles 45a-f sur les porphyrines 49a-d

La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des 2-vinyl-TPP métallées ou protonées **49a-d** avec le *N*-(4-méthylphényl)-*C*-éthoxycarbonylnitrilimine **45a** à reflux de toluène en présence de K₂CO₃ conduit après 24 h d'agitation à un mélange de deux nouveaux produits : les cycloadduits pyrazolines **51a-d** et les dérivés pyrazoles **52a-d** (Schéma 17). Après purification et séparation sur colonne de chromatographie, les cycloadduits pyrazolines 51a-d sont isolés avec de bon rendements (70% à 93%) par contre les dérivés pyrazoles sont obtenus avec des rendements faibles (4% à 9%). Les meilleurs résultats sont obtenus avec les porphyrines métallées avec Cu(II) et Zn(II) ou les cycladduits **51b** et **51c** sont isolés avec des rendements respectifs de 93% et 92% [49].

[48] F. da C. Santos, A. C. Cunha, M. C. B. V. de Souza, A. C. Tomé, Maria G. P. M. S. Neves, V. F. Ferreira, J. A. S. Cavaleiro. *Tetrahedron Letters* **2008**, 49, 7268-7270.

[49] N. M. M. Moura, M. A.F. Faustino, Maria G.P.M.S. Neves, A. C. Tome, E. M. Rakib, A. Hannioui, S. Mojahidi, S. Hackbarth, B. Röder, F. A. A. Paz, Artur M.S. Silva, J. A.S. Cavaleiro. *Tetrahedron* **2012**, 68, 8181-8193.



Conditions: **i**) 45a (5 équiv.), K₂CO₃ (6 équiv.), toluène, reflux; **ii**) 10% H₂SO₄, CHCl₃, t.a.

Schéma 18

Les structures des composés **51a-d** et **52a-d** sont caractérisées par les données spectroscopiques RMN¹H, RMN¹³C, UV-vis et spectrométrie de masse.

Nous présentons dans la figure suivante un exemple de spectre RMN¹H du cycloadduit **51c**.

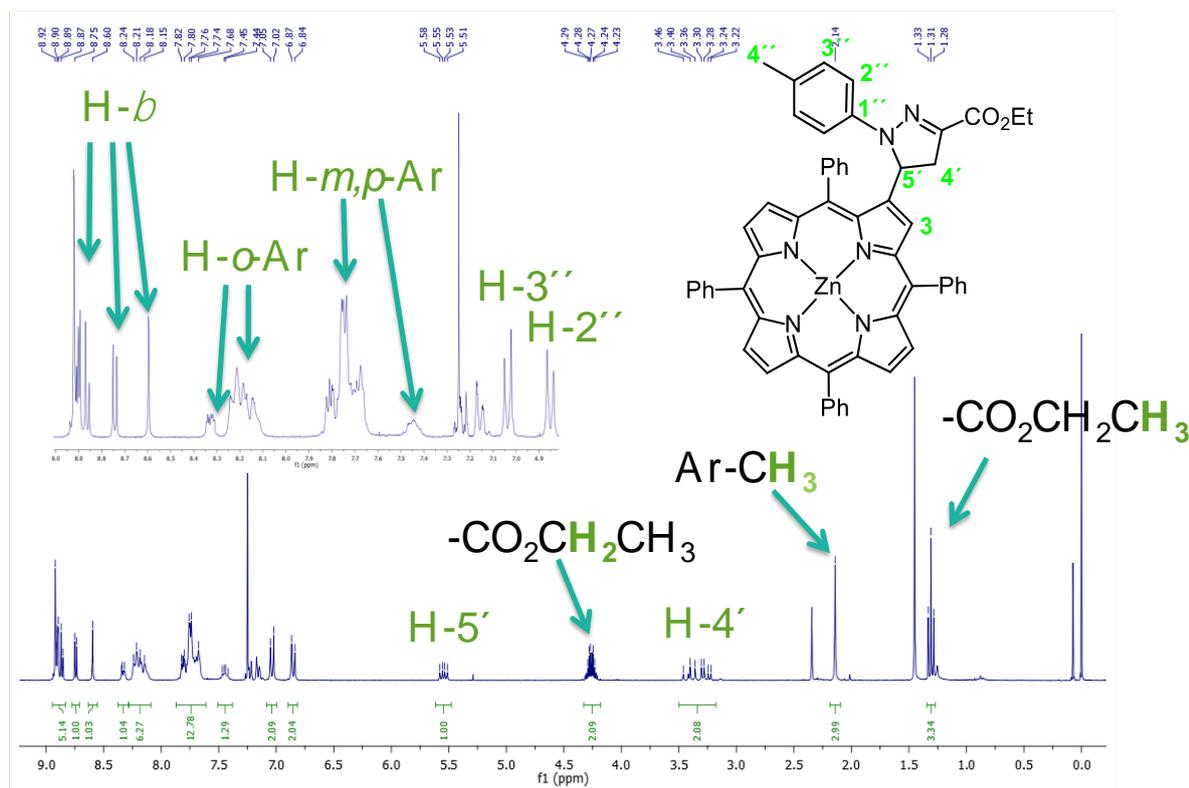


Figure 16 : Spectre RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) du cycloadduit **51c**

La figure ci-dessous présente le spectre RMN¹H du composé **52c** comparé au spectre RMN¹H du cycloadduit **51c** qui confirme bien l'oxydation du motif pyrazoline au composé pyrazolique.

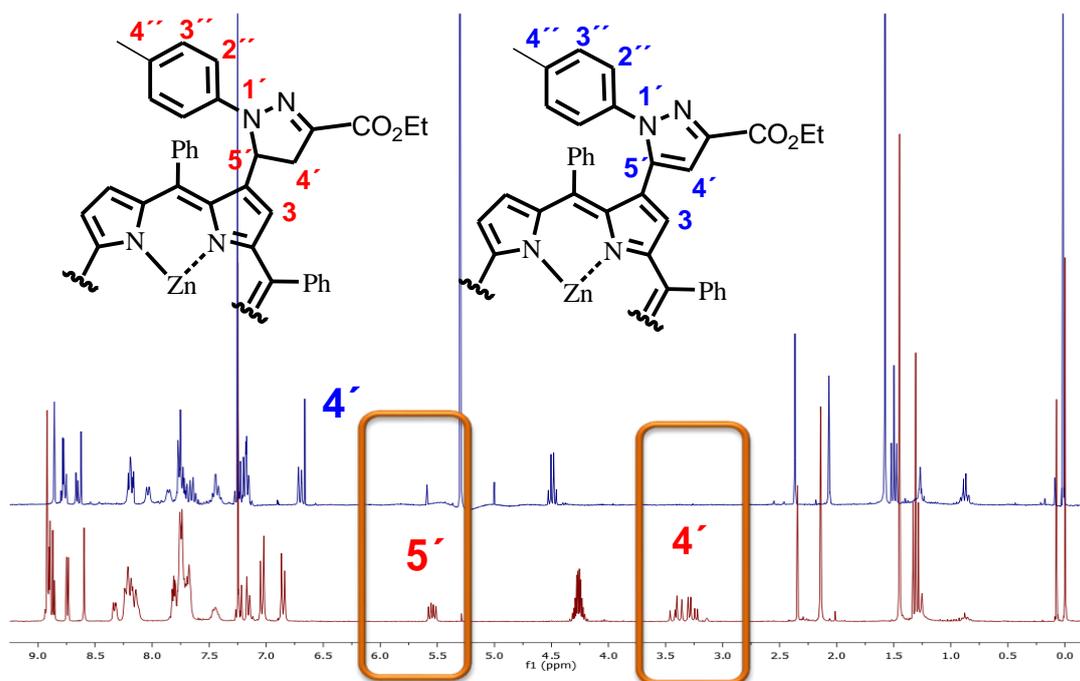


Figure 17 : Oxydation du cycle pyrazolique au cycle pyrazole confirmé par spectre RMN¹H des deux composés **51c** et **52c**

Outre l'analyse spectroscopique, l'analyse cristallographique du composé **51c** confirme bien la régiosélectivité de l'addition du dipôle sur la double liaison vinyle C=C de la porphyrine **49c** (Figure 18).

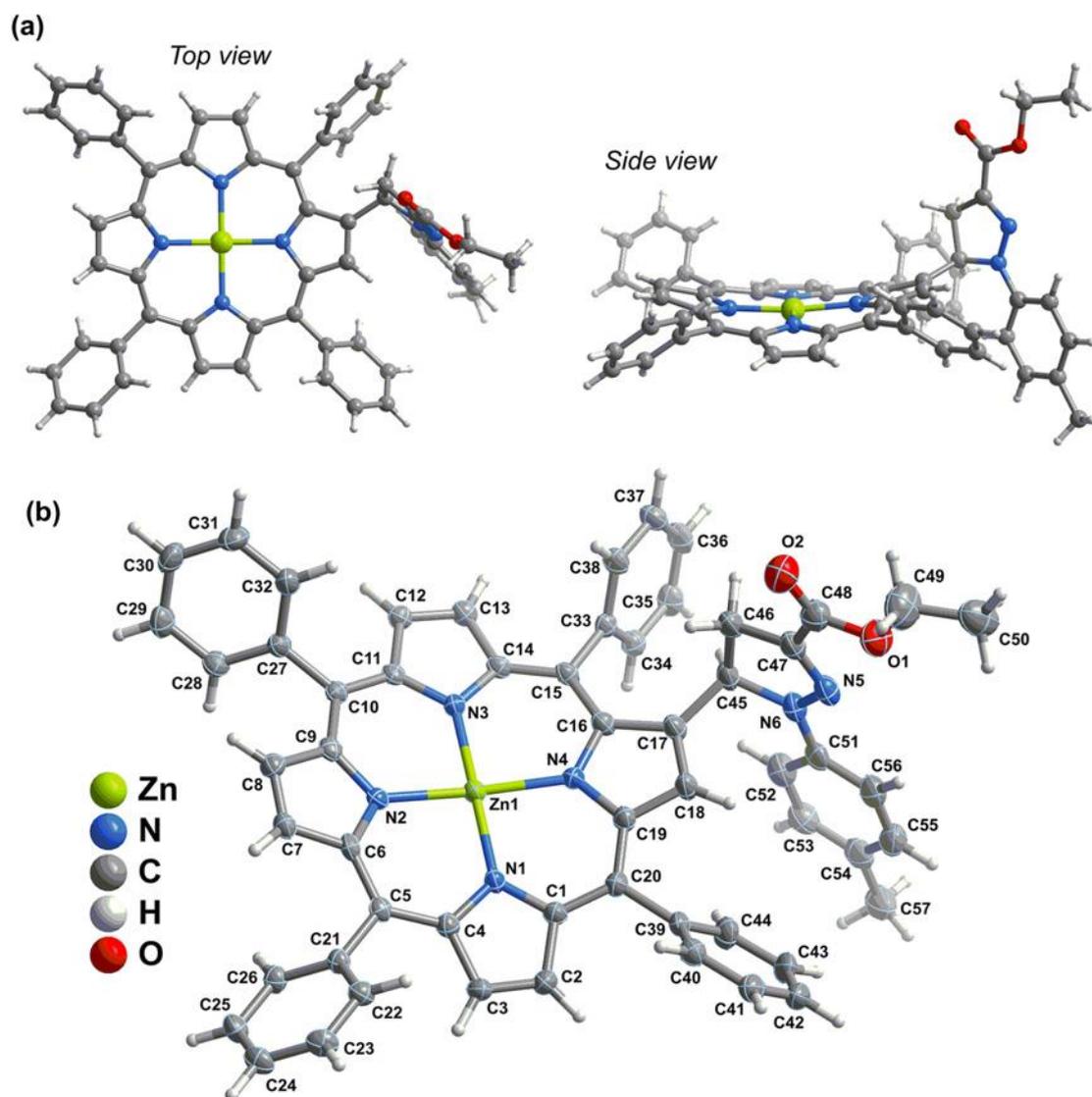
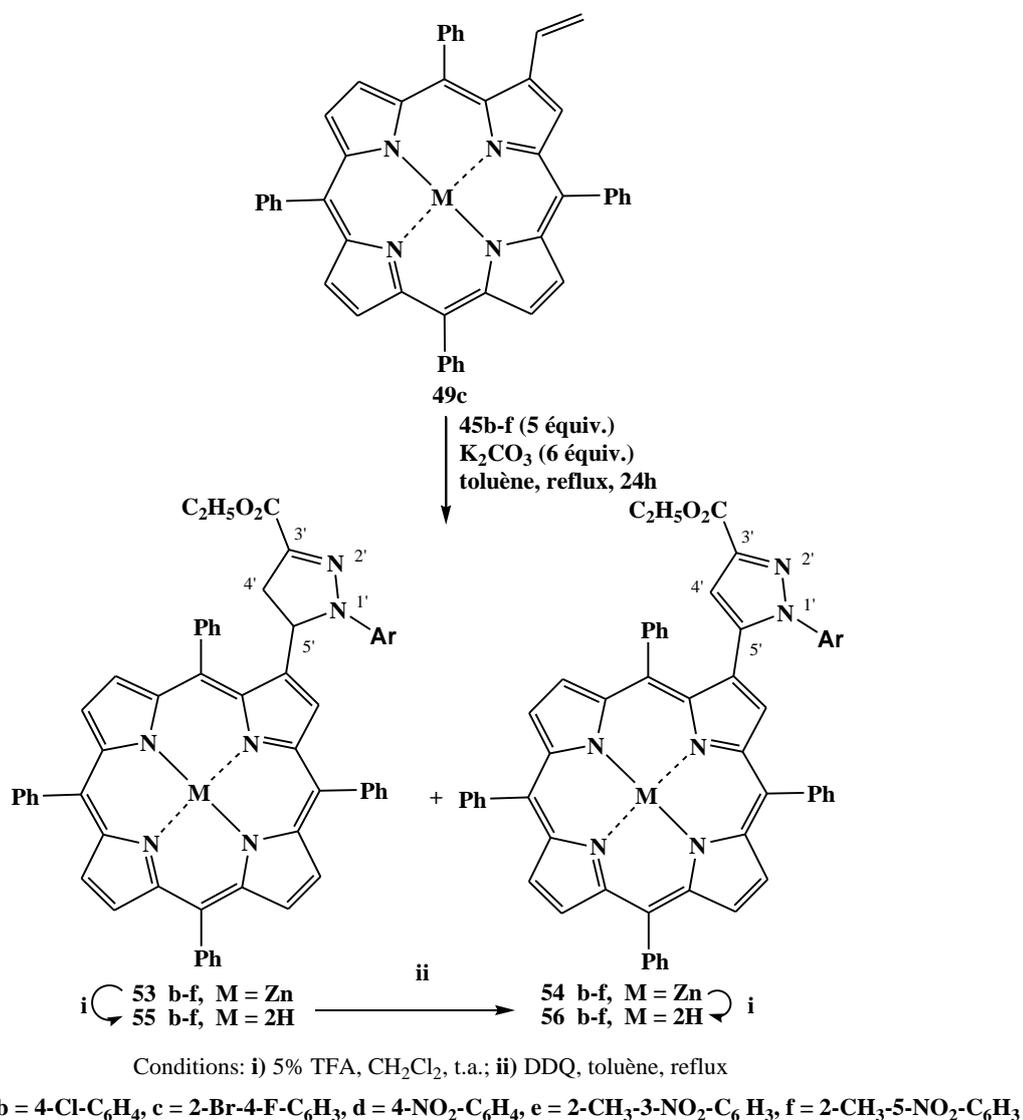


Figure 18 : ORTEP du cycloadduit **51c**

La caractérisation spectroscopique des composés **51b** et **52b** sont réalisés via leurs homologues protonés **51d** et **52d** en utilisant un mélange de 10% de H₂SO₄ dans CHCl₃.

Sur la base des résultats cités ci-dessus, le 2-vinyl-TPP métallée par le Zn (II) **49c** est sélectionné comme dipolarophile le plus actif pour étudier leur réactivité vis-à-vis des autres dipôles. Ainsi, la réaction de **49c** avec les dipôles **45b-f** selon les mêmes conditions citées précédemment conduit dans tous les cas à un mélange de deux produits : les cycloadduits

majoritaires de type pyrazolines **53** et leurs homologues pyrazoles **54** avec des rendements faibles (Schéma 19). Les rendements des composés **53** et **54** sont regroupés dans le tableau 1.



Sch\u00e9ma 19

Les structures des compos\u00e9s **53**, **54**, **55** et **56** sont identifi\u00e9es sur la base des donn\u00e9es spectroscopiques RMN¹H, RMN¹³C, UV-vis et spectrom\u00e9trie de masse.

Tableau 1: Rendements des composés **53b-f** et **54b-f** obtenus à partir de la réaction de **49c** avec les nitrilimines **45b-f**

Ar	Rendement de 53	Rendement de 54
b = 4-Cl-C ₆ H ₄	79	14
c = 2-Br-4-F-C ₆ H ₃	81	---
d = 4-NO ₂ -C ₆ H ₄	77	6
e = 2-Me-3-NO ₂ -C ₆ H ₃	63	19
f = 2-Me-5-NO ₂ -C ₆ H ₃	87	--

Les pyrazoloporphyrines protonées **55b-f** et **56b-f** sont obtenus avec des rendements quantitatifs par traitement des complexes porphyriniques **53b-f** et **54b-f** avec 5% de TFA dans CH₂Cl₂.

Pour la conversion des dérivés pyrazolines **53b-f** aux pyrazoles **54b-f**, plusieurs agents d'oxydation ont été testés pour la déshydrogénation du cycle pyrazolique tels que MnO₂, nitrobenzène et DDQ. Les meilleurs résultats sont obtenus avec le DDQ à reflux de toluène ou les pyrazoles sont isolés avec des rendements allant de 50% à 96% (tableau 2).

Tableau 2 : Déshydrogénation des pyrazolines **53b-f** avec DDQ à reflux du toluène

Ar	Temps (h)	Rendement du composé 54
b = 4-Cl-C ₆ H ₄	5	96%
c = 2-Br-4-F-C ₆ H ₃	15	72%
d = 4-NO ₂ -C ₆ H ₄	15	68%
e = 2-Me-3-NO ₂ -C ₆ H ₃	20	54%
f = 2-Me-5-NO ₂ -C ₆ H ₃	20	50%

Compte tenu de l'application des molécules synthétisées dans la PDT et afin d'apporter une plus grande solubilité dans l'eau de ces dérivés nous avons procédé à l'hydrolyse de la fonction ester du cycle pyrazolique en acide carboxylique. La procédure utilisée pour l'hydrolyse de la fonction ester a été basé sur une méthodologie décrite dans la littérature pour des réactions de ce type des macrocycles porphyriniques [50]. La porphyrine pyrazoline **51c**, **53b-f** est dissoute dans un mélange de pyridine/THF, auquel est ajoutée une solution de KOH dans le méthanol. Le mélange réactionnel est chauffé au reflux pendant 1h puis traité par

hydrolyse acide [51]. Les dérivés oxydés de l'acide carboxylique **57a-f** sont confirmés via l'analyse spectroscopique des produits isolés du mélange réactionnel et ils sont obtenus avec de bons rendements (Schéma 20, Tableau 3).

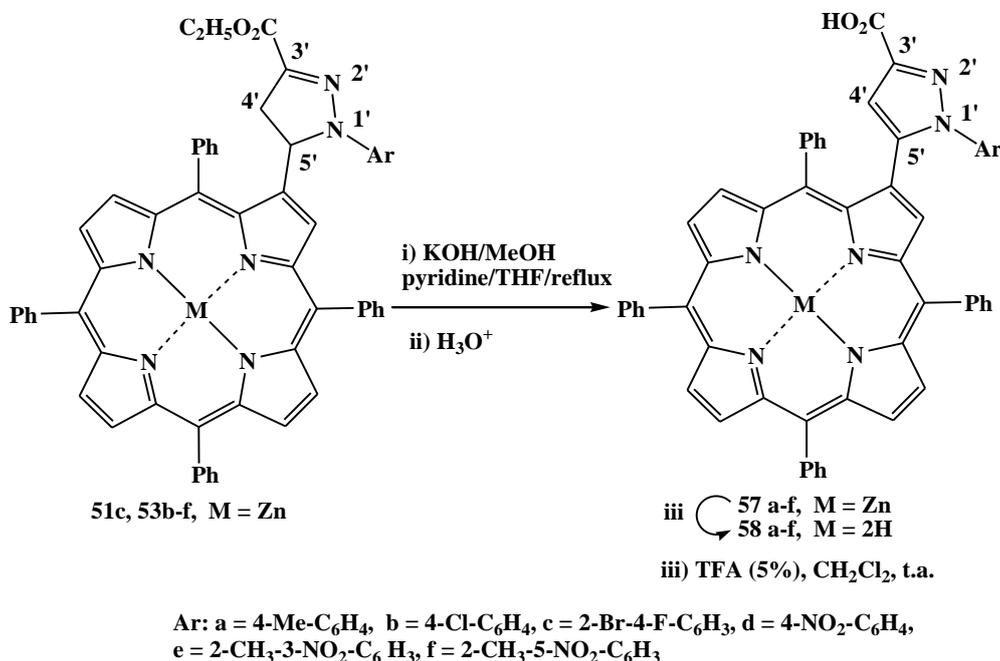


Schéma 20

Il est à noter que les conditions utilisées pour l'hydrolyse du groupe ester est accompagné aussi par la dihydrogénation du cycle pyrazoline en pyrazole. Cette procédure expérimentale répond ainsi aux conditions d'obtention d'un dérivé pyrazol-porphyrine portant un groupe acide carboxylique avec de bons rendements en une seule étape.

Tableau 3 : Les rendements obtenus à partir de l'hydrolyse alcaline du groupe ester et la déshydrogénation de composés **51c, 53b-f**.

Ar	Temps (h)	Rendement du composé 57a-f
a = 4-Me-C ₆ H ₄	1	86%
b = 4-Cl-C ₆ H ₄	1	90%
c = 2-Br-4-F-C ₆ H ₃	1	81%
d = 4-NO ₂ -C ₆ H ₄	1	84%
e = 2-Me-3-NO ₂ -C ₆ H ₃	1	70%
f = 2-Me-5-NO ₂ -C ₆ H ₃	1	68%

[50] Smith, K. M.; Milgrom, L. R.; Kenner, G. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1981**, 2065-2069.

[51] Sykes, P. "A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry", Langman, Nova Iorque, **1989**.

Pour élargir notre étude à d'autres sites dipolarophiles dérivés de la porphyrines et dans le but de l'élaboration de nouveaux sensibilisateurs impliqués dans la photothérapie dynamique, nous avons envisagé aussi la cycloaddition dipolaire 1,3 de la *méso*-tétrakis (pentafluorophényl)porphyrine monopropargylé (1-propargyl-TPFPP) avec les *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines.

V-4- Etude de l'addition des *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines sur la *méso*-tétrakis (pentafluorophényl)porphyrine monopropargylé **50**

La réaction de la porphyrine monopropargylé **50** avec 5 équivalents de la *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimine **45a-c,f** à reflux de toluène et en présence de carbonate de potassium a conduit à un seul cycloadduit de type pyrazoloporphyrine **59a-c,f** issu d'une addition du dipôle sur la triple liaison C≡C de la porphyrine **50** (Schéma 20). La réaction est périsélective. Elle est régiosélective car le sens d'addition du dipôle est unique.

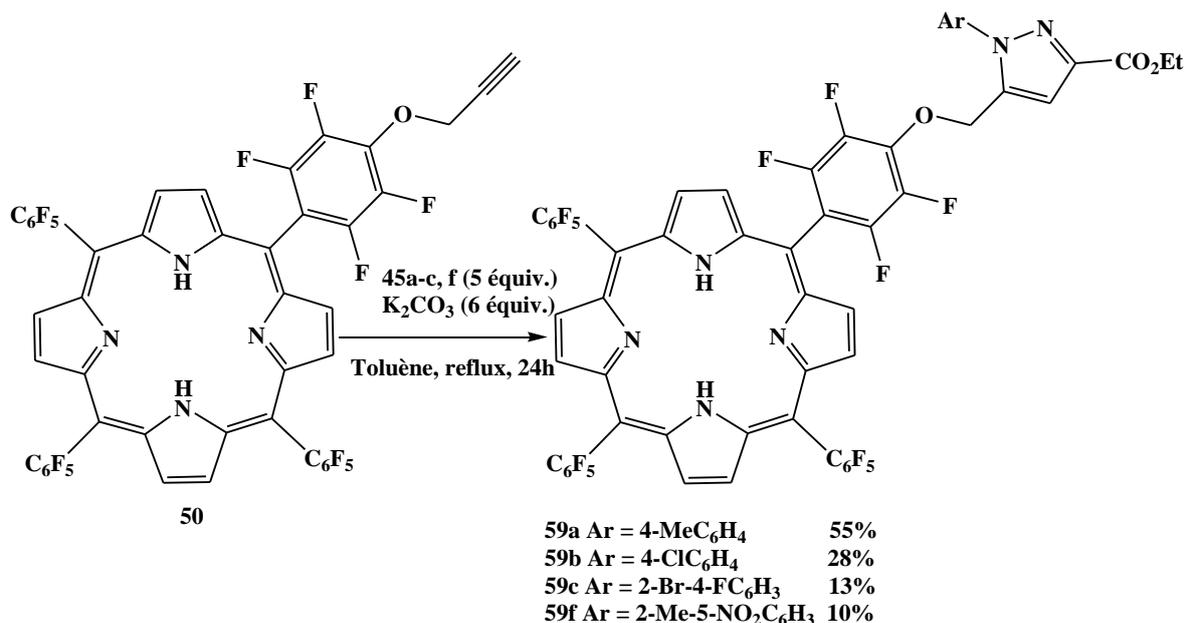


Schéma 20

Les rendements des cycloadduits **59a-c,f** obtenus après purification par chromatographie sur colonne puis sur plaque préparative de silice sont modérés (10% à 55%). Pour améliorer le rendement des cycloadduits, nous avons envisagé un autre solvant, le 1,2-dichlorobenzène dont la température d'ébullition est supérieure à celui du toluène. La première réaction de cycloaddition réalisée entre le composé **50** et le nitrilimine **45b** nous a permis d'isoler le cycloadduit **59b** avec un rendement de 43%. Le rendement du composé **59b** a passé de 28% à

43%, d'où la nécessité d'utilisation d'un solvant à haute température pour accéder à des cycladduits avec de bon rendements.

L'ensemble des porphyrines synthétisées a été caractérisé par diverses méthodes spectrales (UV-Visible, RMN¹H, RMN¹³C, RMN¹⁹F, SM (MALDI et ESI)).

Nous rapportons dans la figure 19 un exemple de spectre RMN¹H et Masse du composé **59b**.

Le spectre RMN¹H du cycloadduit **59b** se compose des groupes de signaux suivants:

- Les protons pyrroliques NH à -2,92 ppm (singulet)
- Les protons du groupe méthyle à 1,45 ppm (triplet)
- Les protons du groupe méthylène à 4,51 ppm (quadruplet)
- Les protons du groupe méthylène lié à l'oxygène à 5,52 ppm (singulet)
- Le proton pyrazolique à 7,29 ppm (singulet)
- les protons du cycle aromatique à 7,61 ppm et 7,81 ppm (doublet)
- Les protons β-pyrroliques à 8,91 ppm (singulet)

La présence d'un signal à 7,29 ppm du au proton pyrazolique confirme bien la régiosélectivité de l'addition du dipôle sur la triple liaison C≡C.

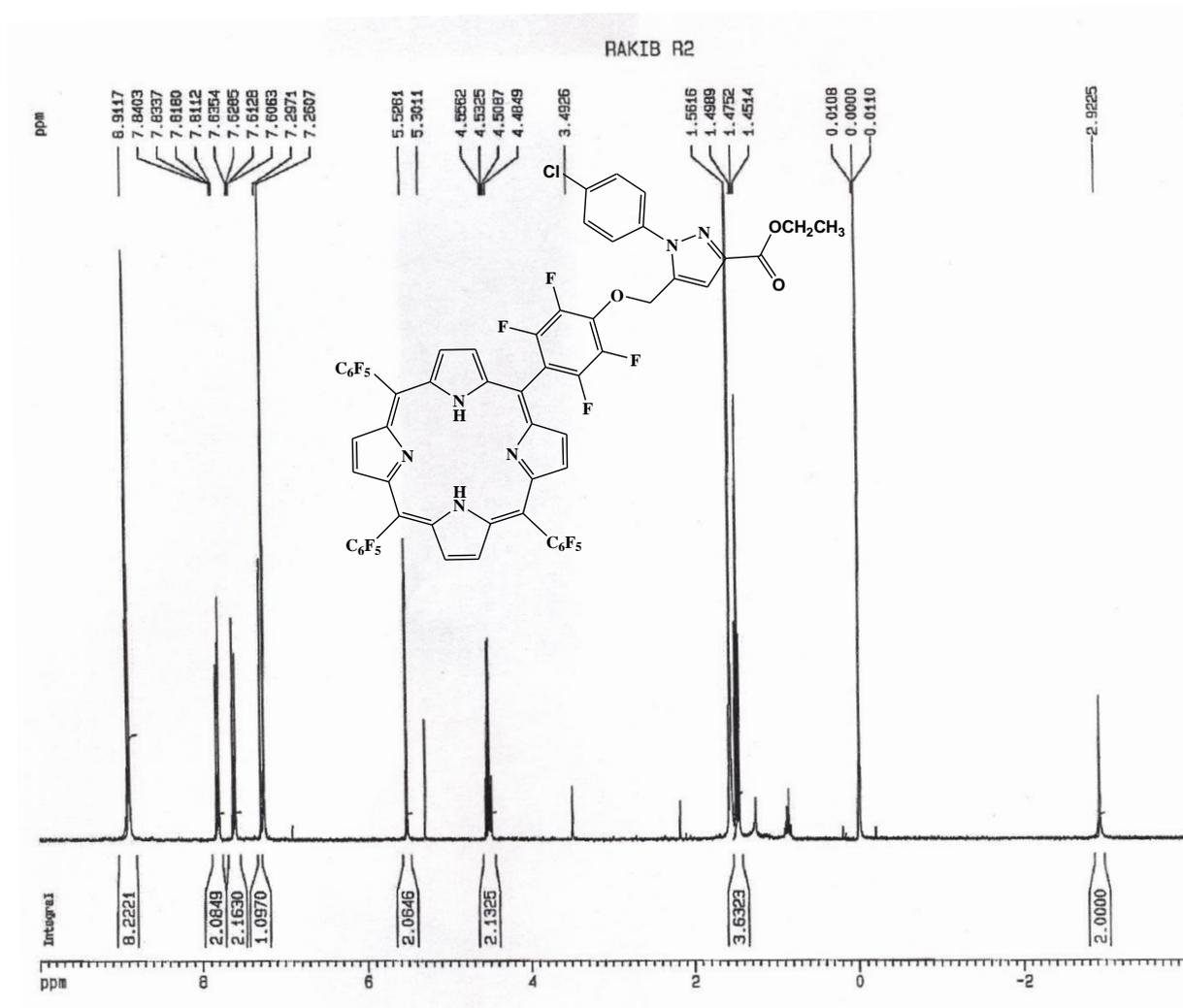


Figure 19: Spectre RMN¹H (300MHz, CDCl₃) du composé **59b**

Le spectre de masse MALDI du cycloadduit **59b** révèle en particulier la présence de l'ion moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 1235,1$.

Applied Biosystems 4700 Proteomics Analyzer 66

4700 Reflector Spec #1[BP = 1235.1, 3837]

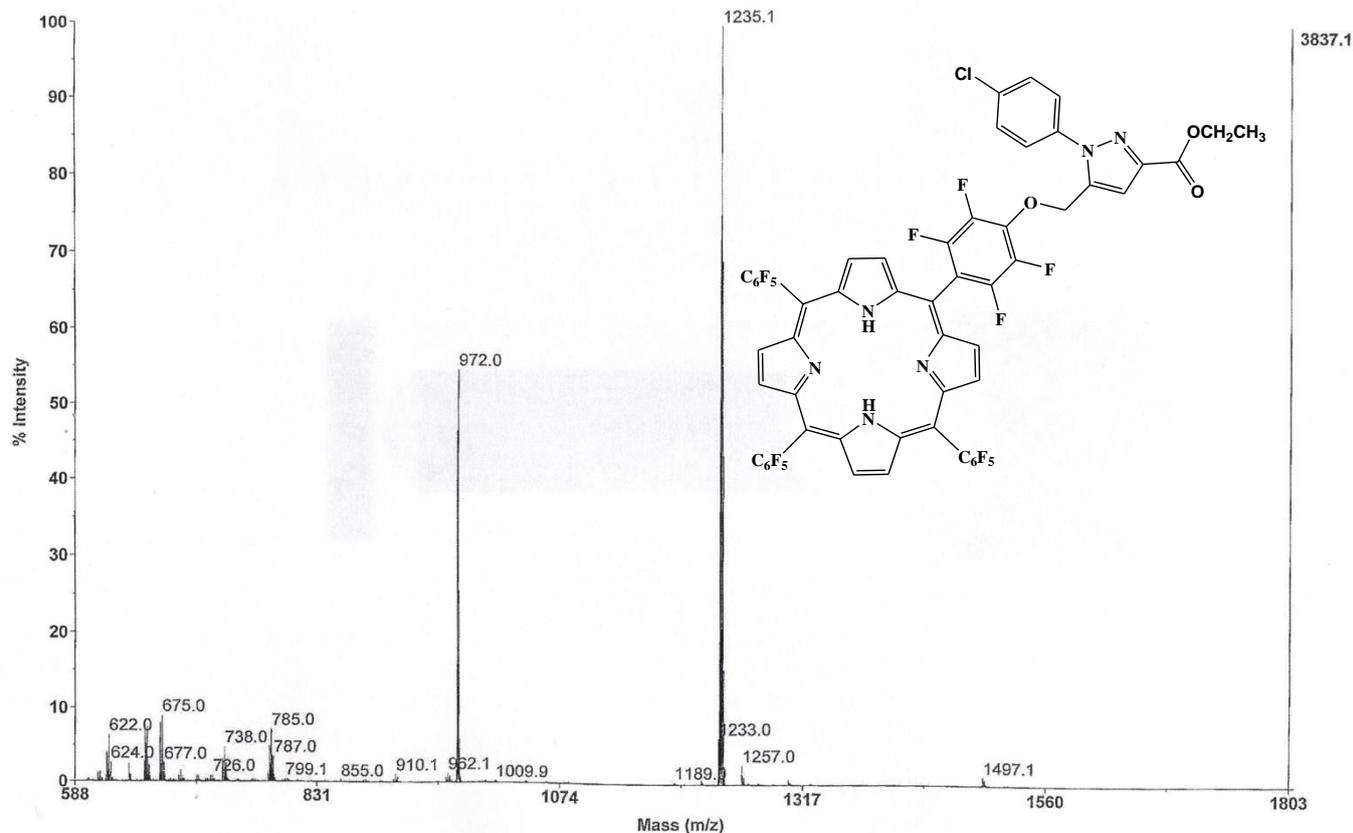


Figure 20: Spectre de masse MALDI du composé **59b**

Pour les spectres UV-visible des composés **59a-c,f** mesurés dans le chloroforme, on remarque qu'ils correspondent tous aux spectres généralement attendus pour les porphyrines protonés de type méso et présentent une forte bande d'absorption vers 413 nm (bande de Soret) et 2 autres bandes d'intensité plus faible vers 583 et 507 nm notées respectivement I, II.

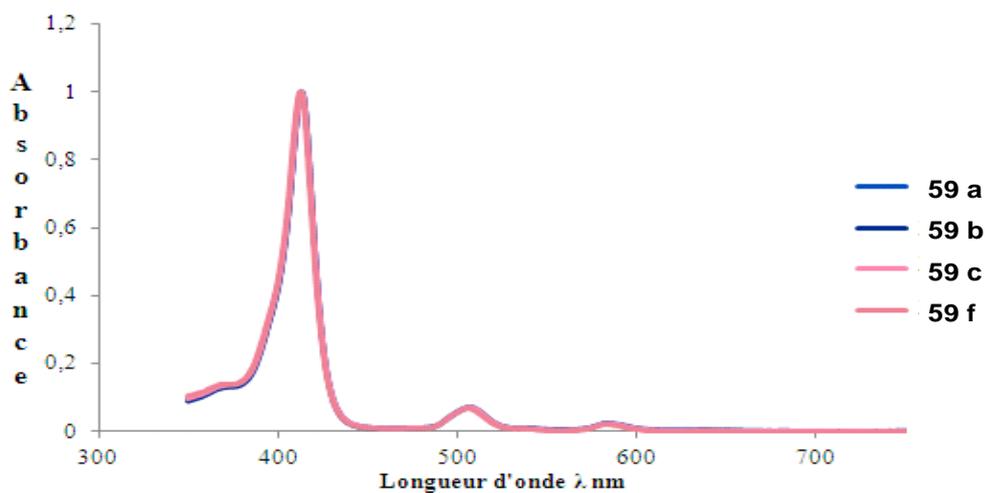


Figure 21 : Spectres UV-visible des composés **59a-c, f** dans CHCl_3

VI- Etude photophysique

Afin de déduire la faisabilité d'une application potentielle dans la thérapie photodynamique (PDT) des composés préparés dans les paragraphes V-2 et V-3, plusieurs paramètres photophysiques ont été étudiés, à savoir, le rendement quantique de fluorescence, et rendement quantique de l'oxygène singulet. Les études sur les propriétés photophysiques des composés synthétisés ont été effectuées par les membres du groupe de laboratoire photobiophysique dirigé par Prof. Beate Röder de l'Université Humboldt de Berlin, Allemagne.

Les études ont été réalisées dans du DMF pour pouvoir comparer l'influence de différents substituants dans les divers paramètres photophysiques des composés. On enregistrant ainsi les spectres d'absorption et d'émission de tous les composés, et déterminer le rendement quantique de fluorescence (Φ_{Flu}) et le rendement quantique de l'oxygène singulet (Φ_{Δ}), en suivant les procédures déjà décrites par le groupe de Pr. Beate Röder [52-54].

La figure 20 montre les spectres d'absorption et d'émission des composés **53b** et **55b** en tant que représentant des composés étudiés pour le paragraphe V-2. Sur la même figure sont également représentés les spectres de Zn (II)-TPP et TPP à titre des résultats comparatives.

Les spectres d'absorption des composés préparés sont méso-TTP typiques soit sous leur forme protoné ou complexée avec des métaux. Ils sont dominées par les maximum d'absorption de bande Soret à une longueur d'onde entre 419 nm et 424 nm. Le nombre de bandes Q dans la région comprise entre 500 nm et 650 nm est dépendante du fait que les dérivés sont sous forme protoné (Q 4 bandes) et complexés deux bandes (Q) (Figure 22).

[52] S. Tannert, E. Ermilov, J. O. Vogel, M. T. M. Choi, D. Ng, B. Röder. *J. Phys. Chem. B.* **2007**, 111, 8053-8062.

[53] S. Hackbarth, J. Schlothauer, A. Preuß, B. Röder. *SPIE Proceedings* **2009**, 7380, 738045, doi: 10.1117/12822830.

[54] E. Ermilov, R. Menting, J. Lau, X. Leng, B. Röder, D. Ng. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 17633-17641.

Toutes les bandes de transition subissent un léger décalage autochrome de 2-5 nm en comparaison avec le TPP-Zn (II) et le TTP. par rapport. En général, le premier mode de vibration de la fluorescence est un peu plus prononcée avec des bandes d'émission à environ 610 nm et 661 nm pour les complexes de Zn (II) et 657 nm et 720 nm pour les produits dérivés sous forme protonés. Nous avons constaté que l'influence des différents substituants du noyau pyrazoline a un effet de délocalisation faible du système électronique π du macrocycle. Seulement des petites différences ont été observées dans les spectres d'absorption et d'émission des composés étudiés, ne diffèrent que légèrement avec les spectres de TPP et TPP-Zn (II), utilisés comme références.

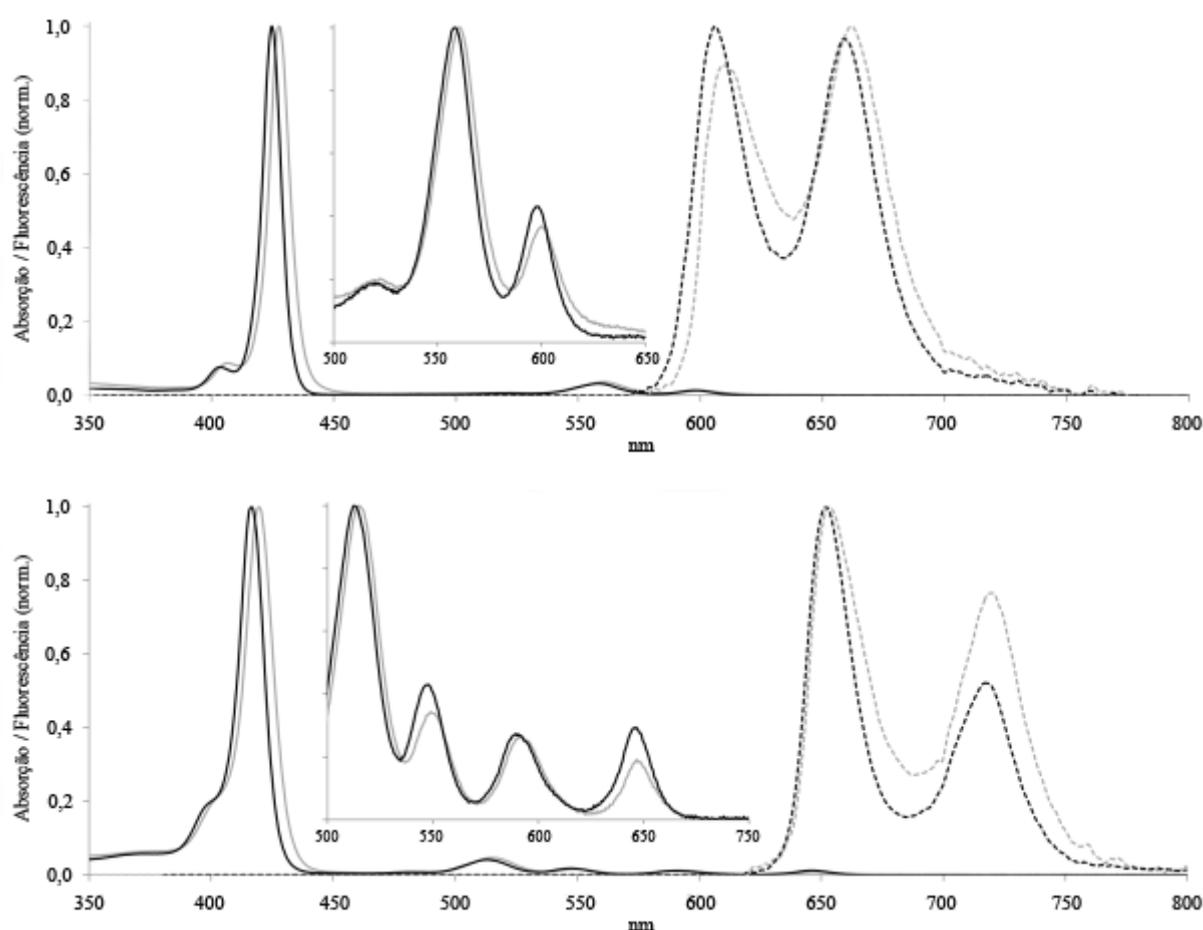


Figure 22 : Les spectres d'absorption (solide) et d'émission (en points) standard, représentant le composé **53b** (Zn (II)) dans le DMF (en haut) et son dérivé protoné **55b** dans le DMF (en bas), à la fois en gris. Noir représente les spectres respectifs de TPP-Zn (II) et TPP. ($\lambda_{exc} = 555$ nm).

Bien que, l'influence des substituants est minime dans les spectres d'absorption et d'émission, il n'en est pas de même pour les valeurs obtenues pour les rendements quantiques de fluorescence déterminés. Les complexes métalliques de Zn (II) présentent des valeurs de Φ_{Flu} entre 2% et 6% (figure 23). On constate que les composés substitués par un groupement NO_2 sur le noyau aromatique du nitrilimine 2-Me-5- NO_2 (**53f**, **54f** et **57f**) sont ceux qui ont les valeurs les plus basses de rendements quantiques de fluorescence. Tandis que les dérivés avec des substituants 4-Me et 2-Br-4-F présentent des valeurs supérieures du même paramètre.

Les cycloadduits dérivés de la porphyrine protonée **55**, **56** et **58** présentent des valeurs de rendement quantique de fluorescence supérieures. Pour les dérivés précités, les valeurs de Φ_{Flu} comprises entre 8% et 13% avec une incertitude de $\pm 1\%$. La différence de rendement quantique de fluorescence entre le dérivé pyrazoline **55** et pyrazole avec un groupe acide carboxylique **58** est plus petite que celle du complexe de Zn(II), variant entre 11% et 13%. Le dérivé **58a** a une valeur de rendement quantique de fluorescence exceptionnellement faible (8%) au sein de la série de produits dérivés de la porphyrine protonée.

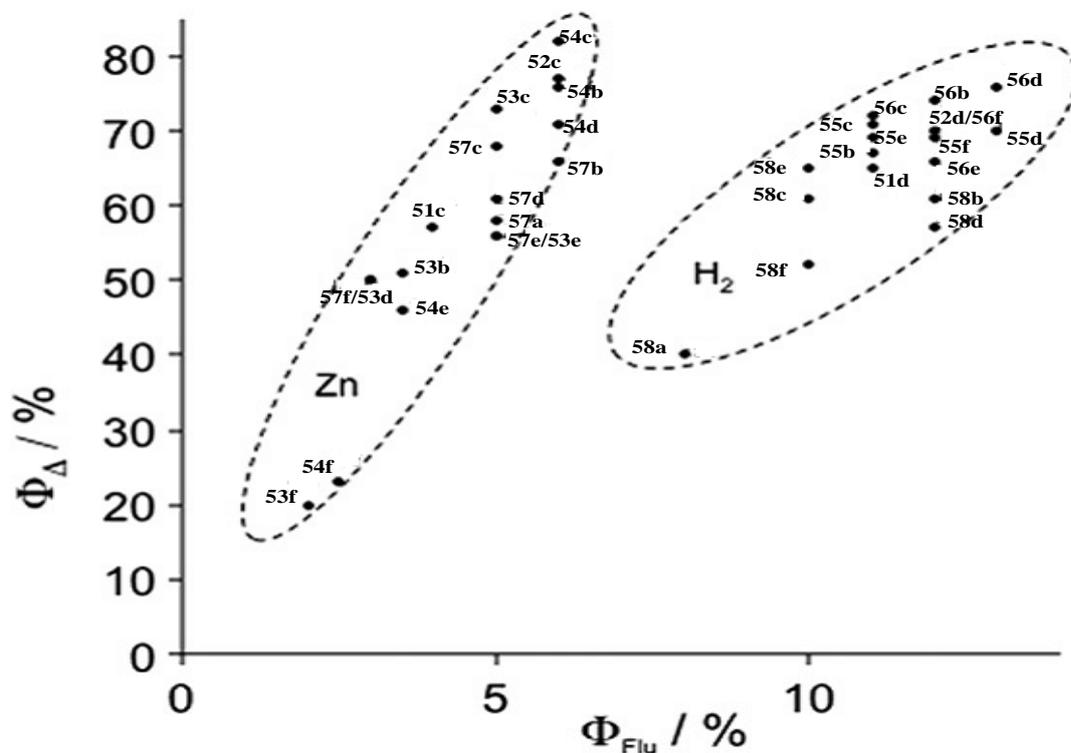


Figure 23 : Rendement quantique de l'oxygène singulet, $\Delta\Phi$ par rapport au rendement quantique de fluorescence, Φ_{Flu} , des composés testés (DMF).

La plupart des composés étudiés présentent un rendement quantique élevé de l'oxygène singulet. On observe une relation linéaire entre les rendements quantiques de fluorescence et de l'oxygène singulet, en particulier pour les complexes de zinc (II). Les valeurs de rendement quantique de l'oxygène singulet varient entre 20% (**53f**) et 82% (**54c**) avec une incertitude de $\pm 5\%$. L'étude des dérivés porphyriniques protonés a montré un rendement quantique de variation d'oxygène singulet assez élevé, sa valeur comprise entre 57% et 76%. Les exceptions étaient pour les composés **58a** (40%) et **58f** (52%). En utilisant comme référence le TPP qui est considéré comme un bon générateur d'oxygène singulet, avec un rendement quantique de la valeur de l'oxygène singulet de 62% dans du DMF [55], on peut dire que la plupart des composés étudiés ont une valeur plus élevée en particulier le Φ_{Δ} correspondant à la série des dérivés de la porphyrine protoné.

La corrélation linéaire observée entre le rendement quantique de fluorescence et le rendement quantique de l'oxygène singulet avec tous les composés étudiés montrent que les constantes de vitesse décrivant ces transitions d'état composés singlet à l'état de triplet, puis à l'état singulet, sont assez semblables dans tous les complexes de Zn (II) et entre les dérivés de les paragraphes V-2 et V-3 porphyrine protoné.

Dans la figure 24 sont répertoriés les spectres de fluorescences des cycloadduits **59a-c,f**. Après excitation à une longueur d'onde d'absorption de 532 nm, nous observons deux pics de fluorescence. La première bande d'intensité faible se situe entre 620 nm et 660 nm avec un maximum vers 635 nm et la seconde, d'intensité plus forte, entre 660 et 750 nm avec un maximum vers 710 nm. Cette propriété de fluorescence permet la détection des zones de plus forte accumulation puis détecter le photodiagnostic des tumeurs.

[55] M. C. de Rosa, R. J. Crutchley. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 233-234, 351.

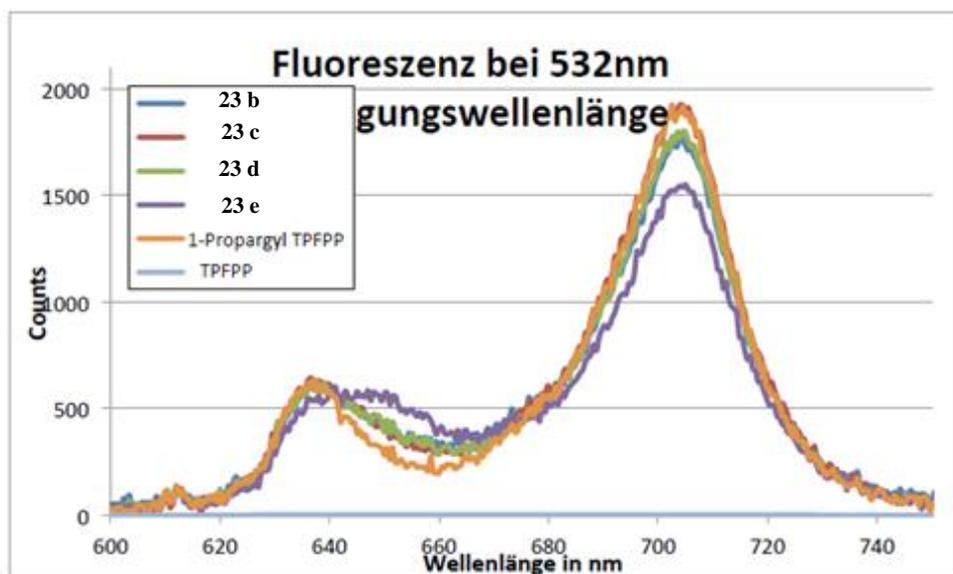


Figure 24: Spectres fluorescence des composés **59a-c, f** dans DMF

Cette étude est basée essentiellement sur l'évaluation de l'aptitude des composés synthétisés à produire de l'oxygène singulet, étant donné que ce dernier est l'agent toxique principal en PDT et étudier l'influence des différents substituants sur l'activité photophysique. Ces études ont été réalisées en DMF ainsi que l'oxygène singulet a été obtenu par détection direct à 1270 nm.

Tableau 4: Les rendements quantiques d'oxygène singulet avec l'utilisation de TPP comme référence

Composés	Rendement Quantique en $^1\text{O}_2$
59a	0,72
59b	0,77
59c	0,81
59f	0,71
TPFPP	0,75
1-Propargyl-TPFPP	0,80

D'après les résultats on remarque que tout les composés synthétisés présentent un rendement quantique en oxygène singulet important, tout ces rendements sont supérieure que celle de référence TPP dans DMF qui présent un rendement quantique de 65%. Le TPFPP montre un rendement de 75% ainsi que leur fonctionnalisation par prop-2-yn-1-yloxy permet

d'augmenter leur rendement avec 5%. Le meilleur rendement quantique en oxygène singulet des produits résultants de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 a été obtenu pour le composé **59c** (81%). Généralement l'addition des dipôles n'a pas d'effet sur la production d'oxygène singulet par rapport au 1-Propargyl-TPFPP.

VII- Activité cytotoxique

Des tests de cytotoxicité ont été réalisés sur quelques produits synthétisés afin d'évaluer, *in vitro*, leur potentiel antitumoral.

Test de cytotoxicité

La lignée cellulaire tumorale P815 (mastocytome murin) est cultivée en routine au Laboratoire d'Immunologie Biochimie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences et Technique de Béni-Mellal. L'incubation des cellules est effectuée en atmosphère humide à 37°C et à 5% de CO₂. Avant de réaliser le test de cytotoxicité, l'équipe procède au comptage des cellules viables par comptage à l'exclusion au bleu de trypan. Le but étant d'obtenir une suspension de 1 à 1.5 x 10⁴ cellules/mL à incuber dans 100 µl de milieu de culture complet par puits à fond plat des plaques de micro-culture de 96 puits (Bioster, Bastia di Rovolon, Italy). Cette micro-culture ainsi obtenue est mise en incubation 24 heures avant la réalisation des tests de cytotoxicité. Ce dernier est alors effectué en appliquant des doses décroissantes des extraits obtenues par des dilutions en de demi en demi, dans 100 µL de milieu DMEM. La concentration la plus forte du test à savoir 500 µg/mL ainsi obtenue, est celle du premier puits de chaque plaque de micro-culture. Les puits suivants recevront successivement 100 µM dilué de demi en demi. Chaque essai est réalisé en double et répété trois fois.

Les extraits sont tout d'abord solubilisés dans du DMSO dont la concentration finale, lors du test, n'excédera pas 2% (cette concentration n'ayant pas d'effet sur la croissance cellulaire). Ces micro-cultures sont incubées en présence des extraits à 37°C en atmosphère humide contenant 5% de CO₂ pendant 48 heures.

Evaluation de l'activité cytotoxique : Test MTT

La détermination de l'activité antiproliférative est réalisée en évaluant la concentration des extraits inhibant 30% de la croissance cellulaire (IC₃₀) par rapport à un témoin cultivé dans les mêmes conditions en l'absence du composé étudié, en partant d'une concentration de 10⁵ cellules/mL. La révélation de l'action cytotoxique est effectuée à l'aide du réactif MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide.

Ce test est réalisé comme décrit et modifié par Mosmann, 1983. Au bout de la période d'incubation et dans les conditions de culture citées ci-dessus, on ajoute 20 µl d'une solution de MTT (5mg/mL de PBS). Après 3 heures d'incubation dans les mêmes conditions de culture, les cristaux violets formés suite à la réduction du MTT par les déshydrogénases mitochondriales des cellules vivantes sont solubilisés en rajoutant 100 µL de DMSO. On procède ensuite à la lecture de la densité optique (DO) à deux longueurs d'ondes 540 nm et 630 nm en utilisant le lecteur spectro-photométrique de microplaques Multiscan EX. Ainsi, l'effet cytotoxique des extraits (poucentage de lyse des cellules), peut être mesuré en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Lyse} = (1 - \text{DO}/\text{DO}_0) \times 100$$

Avec :

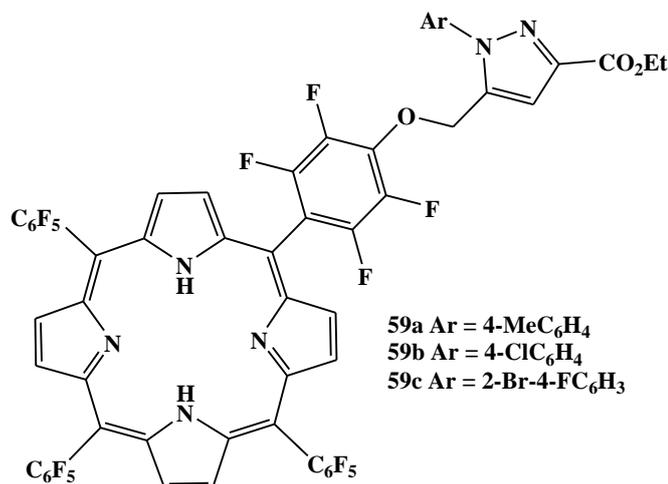
DO : densité optique correspondant aux cellules traitées par les extraits.

DO₀: densité optique correspondant au contrôle négatif (cellules non traitées).

L'activité cytotoxique des produits est comparée en utilisant les valeurs des concentrations inhibitrices (IC₃₀) qui donne 30% de lyse de la prolifération cellulaire.

• Resultats

Trois produits de porphyrine base libre ont été testés sans traitement par la lumière, *in vitro* contre la lignée cellulaire **P815**.



Les résultats des tests pharmacologiques des composés testés *in vitro*, sur des cellules tumorales de la lignée P815 sont présentés dans la figure suivante :

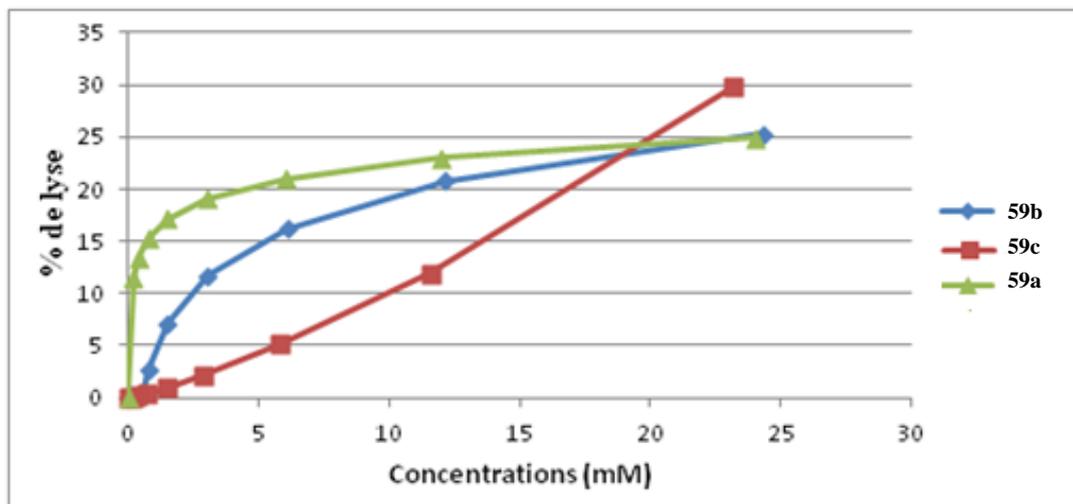


Figure 25 : Effet cytotoxique des composés 59a-c sur la lignée cellulaire P815

La figure montre que l'activité cytotoxique des trois composés contre la lignée cellulaire P815 est significative, les concentrations sont de l'ordre de millimoles. Le composé 59c présente une concentration inhibitrice assez intéressante ($IC_{30} = 23$ mM) contre la lignée cellulaire P815 par rapport aux produits 59a et 59b. Cette activité est principalement l'effet des substituants greffés sur l'homocycle benzénique.

VIII- Conclusion

Les 2-vinyl-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine (2-vinyl-TPP) métallées en particulier celui complexé par Zn(II) et le *méso*-tétrakis(pentafluorophénylporphyrine)propargylique sont des dipolarophiles réactifs vis-à-vis des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Ces derniers réagissent préférentiellement sur les sites dipolarophiles : C=C, C≡C et conduit à la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type porphyrine-pyrazolines et porphyrine-pyrazoles. Ces derniers sont obtenus avec de bons rendements (50-96%) via la conversion des pyrazolines par oxydation avec le DDQ.

L'hydrolyse acide des porphyrine-pyrazolines a permis de préparer en une seule étape des porphyrine-pyrazoles fonctionnalisés par une fonction acide avec des rendements supérieurs à 65%.

L'analyse photophysique des composés synthétisés montre que dans la série de cycloaddition de vinylporphyrine Zn(II), les cycloadduits de type les porphyrine-pyrazolines présentent des rendements quantiques d'oxygène singlet importants. Les porphyrine-pyrazoles issus de l'addition du nitrilimine sur le porphyrinemonopropargylé montrent que le rendement

quantique d'oxygène singulet dépasse 70% (Celle du produit de référence (TPP dans DMF $\Phi_{Flu} = 65\%$). Par conséquent, les composés qui présentent haut rendement quantique de l'oxygène singulet confèrent à ces dérivés des propriétés intéressantes pour leurs utilisation potentielle comme photosensibilisants dans la photothérapie dynamique du cancer.

Des tests préliminaires pharmacologiques, réalisés *in vitro* sans excitation par la lumière réalisés sur quelques molécules porphyrine-substitué en position *méso* par le motif pyrazole, montrent des résultats significatifs contre la lignée cellulaire P815.

IX- Partie expérimentale

Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés :

Les points de fusion non corrigés ont été mesurés sur l'appareil Buchi Melting Point B-540. Toutes les masses molaires (MM) qui sont indiquées dans la partie expérimentale sont exprimées en grammes par mole.

Les spectres de spectroscopie d'absorption UV-visible (spectrométrie d'absorption) ont été enregistrés dans $CHCl_3$ sur un spectrophotomètre UV-2501-PC Shimadzu au département de chimie, Université d'Aveiro.

Les spectres RMN¹H, RMN¹³C et RMN ¹⁹F ont été enregistrés dans $CDCl_3$ en utilisant un appareil Bruker DRX 300 Avance respectivement à 300 MHz (¹H), 75MHz (¹³C) et 282 MHz instruments (¹⁹F) ou Bruker Avance 500 MHz (¹H) 125MHz (¹³C) au département de chimie, Université d'Aveiro. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. Les constants de couplage sont données en Hertz (Hz).

La Chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice sans indicateur. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

La séparation par Chromatographie sur plaque préparative a été effectuée sur des plaques de verre (20 x 20 cm) préalablement recouvertes d'une couche mince de gel de silice 60 (Merck), activées dans une étuve à 100 °C pendant 8 heures.

Les spectres de masse MALDI ont été effectués au département de chimie de l'Université d'Aveiro avec un spectromètre MALDI-TOF/TOF 4700 (Applied Biosystems Proteomics Analyzer 66) sans matrice avec l'utilisation de Chloroforme comme solvant.

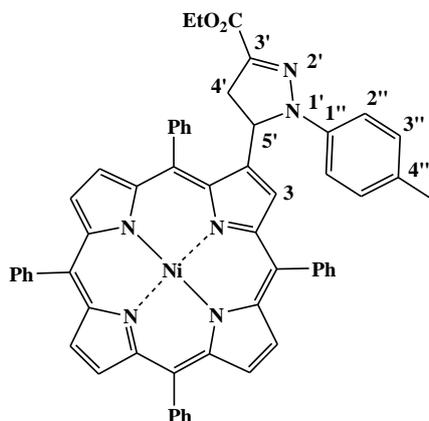
Les spectres de HRSM par technique ESI ont été effectués par Spectromètre VG AutoSpec Q (Université de Vigo, Espagne)

Les analyses photophysiques ont été réalisées au L'Université Humboldt de Berlin, Allemand, sous la direction de Professeur Beate Röder. La luminescence d'oxygène singulet a été mesuré à 1270 nm par A cw Yb:YAG laser (Versadisk, ELS).

Réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 des dérivés de 2-vinyl-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine et N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines.

Mode opératoire générale : A une solution de 2-vinyl-TPP 49a-d (25,0 mg) dans du toluène anhydre (1,0 ml), on a ajouté (5,0 équiv.) de N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines 45a-f et (6,0 équiv) de K₂CO₃. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux sous agitation, sous atmosphère d'azote pendant 24 heures. Après ce temps, le mélange réactionnel est refroidit puis dilué avec du CH₂Cl₂, placé dans une ampoule à décanter et lavé avec H₂O. La phase organique est extraite et séché sur Na₂SO₄ puis évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié en utilisant une chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : toluène/CH₂Cl₂ 1 :1). Trois fractions ont été isolés, une correspondante au produit de départ 49a-d et deux autres fractions polaires correspondantes dans l'ordre de polarité croissante aux dérivés de porphyrine-4,5-dihydropyrazolines et porphyrine-pyrazole.

{2-[3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl]-5,10,15,20-tétraphényl porphyrinate}nickel(II) 51a



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,76-8,66 (5H, m, H- β), 8,54 (1H, d, J = 5,0 Hz, H- β), 8,37 (1H, s, H-3), 8,31 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-Ph), 8,05-7,94 (4H, m, H-Ph) 7,80-7,55 (13H, m, H-Ph), 7,46 (2H, t, J = 7,2 Hz, H-Ph), 7,05 et 6,98 (4H, AB, J = 8,8 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''),

5,36 (1H, dd, J = 6,3 et 12,9 Hz, H-5'), 4,28-4,17 (2H, m, CH₂CH₃), 3,31 (1H, dd, J = 12,9 et 17,9 Hz, H-4'cis), 3,14 (1H, dd, J = 6,3 et 17,9 Hz, H-4'trans), 2,25 (3H, s, CH₃), 1,27 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

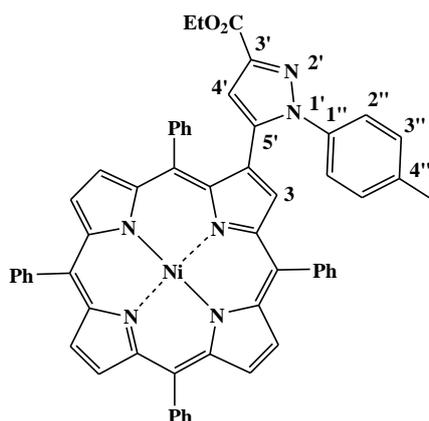
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 162,9, 144,7, 143,0, 142,9, 142,8, 142,7, 142,53, 142,46, 140,5, 140,3, 140,1, 140,0, 137,3, 136,9, 134,2, 133,7, 133,5, 132,9, 132,8, 132,6, 132,5, 132,3, 132,1, 130,3, 129,4, 129,0, 127,84, 127,80, 127,75, 127,4, 126,97, 126,95, 119,3, 119,2, 119,0, 117,3, 115,0, 61,5, 61,0, 42,9, 20,6, 14,3.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 418,0 (5,18), 535,0 (4,18), 567,0 (3,63) nm.

SM (MALDI): m/z 900,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₂N₆NiO₂ [M]⁺. 900,2718, trouvé 900,2708.

{2-[3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl]-5,10,15,20-tétraphényl porphyrinate}
nickel(II) 52a



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,76-8,70 (4H, m, H-β), 8,62 (1H, d, J = 5,0 Hz, H-β), 8,57 (1H, s, H-3), 8,49 (1H, d, J = 5,0 Hz, H-β), 8,02-7,96 (4H, m, H-Ph), 7,85 (2H, d, J = 8,2 Hz, H-Ph), 7,74-7,56 (11H, m, H-Ph), 7,40-7,33 (3H, m, H-Ph), 7,14 et 6,79 (AB, 4H, J = 8,4 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,60 (1H, s, H-4'), 4,46 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,12 (1H, s, CH₃), 1,46 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃) ppm.

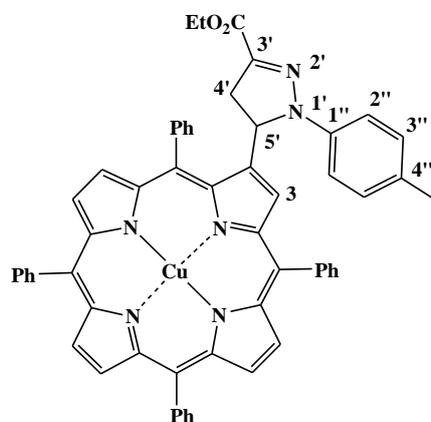
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 163,0, 143,8, 143,3, 143,1, 142,3, 140,4, 140,2, 140,0, 138,9, 138,5, 137,1, 137,0, 133,8, 133,7, 133,3, 133,0, 132,6, 132,5, 131,8, 128,9, 127,8, 127,0, 126,9, 126,4, 124,2, 119,3, 119,2, 119,0, 113,1, 60,8, 20,8, 14,5.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 421,0 (5,02), 534,5 (4,06), 568,5 (3,54) nm.

SM (MALDI): m/z 898,2 [M]⁺

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₀N₆NiO₂ [M]⁺ 898,2561, trouvé 898,2552.

{2-[3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl]-5,10,15,20-tétraphényl porphyrinate}cuivre(II) 51b

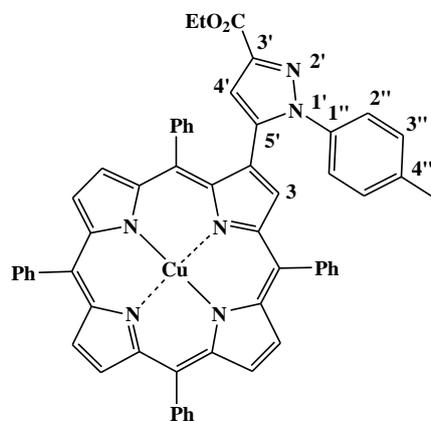


UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ϵ) 419,0 (5,20), 542,5 (4,28), 577,0 (3,45) nm

SM (MALDI): m/z 905,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z **calculé** C₅₇H₄₂N₆CuO₂ [M]⁺. 905,2659, **trouvé** 905,2658.

{2-[3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl]-5,10,15,20-tétraphényl porphyrinate} cuivre(II) 52b

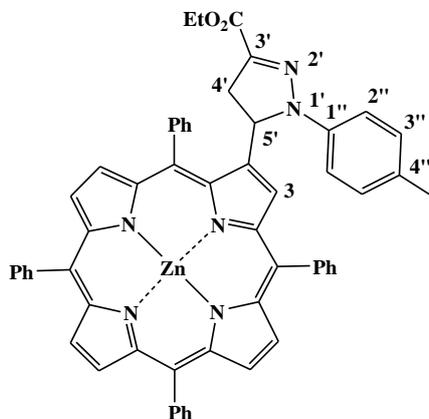


UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ϵ) 419,0 (5,13), 533,5 (4,19), 568,0 (3,56) nm.

SM (MALDI): m/z 903,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z **calculé** C₅₇H₄₀N₆CuO₂ [M]⁺. 903,2659, **trouvé** 903,2652.

**{2-[3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl]-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate}zinc(II) 51c**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,92-8,86 (5H, m, H-β), 8,75 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,59 (1H, d, J = 5,0 Hz, H-β), 8,34-8,14 (7H, m, H-Ph), 7,83-7,67 (12H, m, H-Ph), 7,49-7,41 (1H, m, H-Ph), 7,04 et 6,85 (4H, AB, J = 8,7 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 5,54 (1H, dd, J = 7,0 et 12,9, Hz, H-5'), 4,32-4,23 (2H, m, CH₂CH₃), 3,41 (1H, dd, J = 12,9 et 17,9 Hz, H-4'cis), 3,26 (1H, dd, J = 7,0, 17,9 Hz, H-4'trans), 2,15 (3H, s, CH₃), 1,31 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

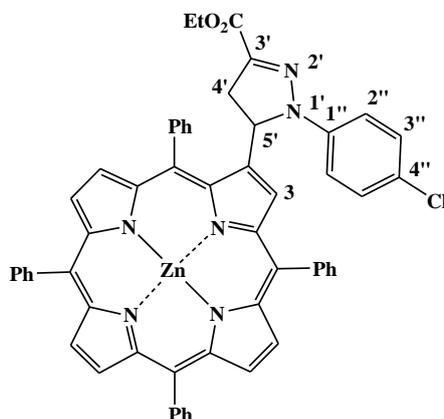
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 163,0, 150,8, 150,6, 150,4, 150,4, 150,1, 148,1, 144,9, 144,8, 142,9, 142,6, 142,6, 142,1, 140,2, 136,7, 134,9, 134,7, 134,45, 134,40, 134,1, 133,0, 132,8, 132,33, 132,28, 132,2, 132,1, 131,7, 130,2, 129,2, 129,0, 128,8, 128,2, 127,6, 127,3, 127,1, 126,6, 125,3, 121,7, 121,3, 121,1, 120,1, 115,1, 61,8, 62,0, 43,0, 20,5, 14,4.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,42), 560,0 (4,33), 599,0 (3,92) nm.

SM (MALDI): m/z 906,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₂N₆O₂Zn [M]⁺. 906,2661, trouvé 906,2657.

**[2- (1- (4-Chlorophényl)-3-éthoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl) -5,10,15,20-
tétraphénylporphyrinate] zinc (II) 53b**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,93-8,86 (5H, m, H-β), 8,74 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,53 (1H, s, H-3), 8,35 (1H, d, J = 7,2 Hz, H-Ph), 8,24-8,09 (6H, m, H-Ph), 7,84-7,67 (12H, m, H-Ph), 7,49-7,41 (1H, m, H-Ph), 7,08 et 7,02 (4H, AB, J = 9,2 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 5,52 (1H, dd, J = 6,8 et 12,8 Hz, H-5'), 4,32-4,23 (2H, m, CH₂CH₃), 3,42 (1H, dd, J = 12,8 et 18,3 Hz, H-4'*cis*), 3,27 (1H, dd, J = 6,8 et 18,3 Hz, H-4'*trans*), 1,30 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

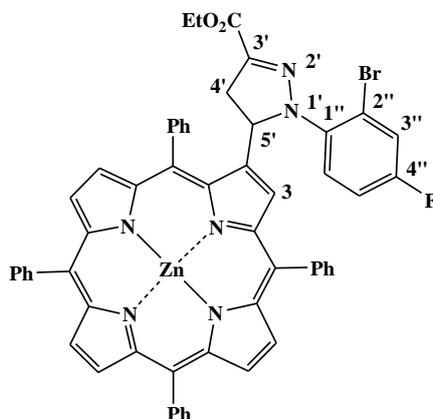
RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 162,8, 150,7, 150,6, 150,5, 150,4, 150,2, 147,9, 144,6, 143,8, 142,8, 142,6, 142,5, 142,1, 141,2, 138,3, 134,9, 134,6, 134,4, 134,4, 134,0, 133,0, 132,6, 132,3, 132,22, 132,18, 131,8, 129,5, 129,2, 128,9, 128,7, 128,6, 127,6, 127,4, 127,1, 126,6, 125,7, 121,7, 121,4, 121,1, 120,6, 120,0, 116,1, 61,7, 61,2, 43,3, 14,3.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,05), 560,0 (3,57), 599,0 (3,14) nm.

SM (MALDI): *m/z* 926,1 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₆H₃₉ClN₆O₂Zn [M]⁺. 926,2109, trouvé 926,2102.

[2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-éthoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc (II) 53c.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,92-8,86 (5H, m, H-β), 8,75 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,59 (1H, s, H-3), 8,31-8,14 (7H, m, H-Ph), 7,89-7,75 (13H, m, H-Ph), 7,34-7,12 (3H, m, H-3'', H-5'' et H-6''), 6,05 (1H, dd, J = 9,1 et 12,3 Hz, H-5'), 4,32-4,23 (2H, m, CH₂CH₃), 3,47 (2H, dd, J = 12,3 et 17,8 Hz, H-4'*cis*), 3,23 (2H, dd, J = 9,1 et 17,8 Hz, H-4'*trans*), 1,31 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

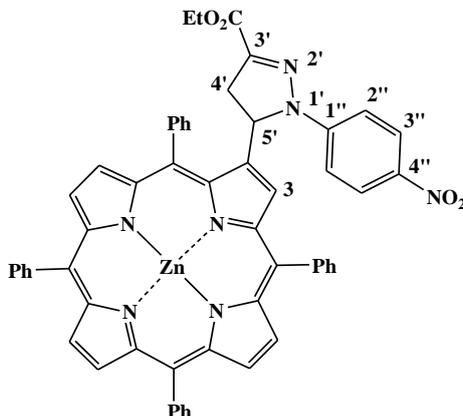
RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 162,9, 150,9, 150,6, 150,4, 150,2, 150,1, 147,7, 145,6, 143,9, 142,7, 142,60, 142,58, 142,5, 139,7, 138,9, 138,9, 134,4, 134,3, 134,2, 134,1, 133,2, 132,5, 132,3, 132,2, 132,1, 131,6, 128,7, 127,65, 127,56, 127,1, 126,9, 126,6, 121,7, 121,3, 120,6, 120,4, 120,2, 118,4, 118,3, 114,7, 114,6, 64,7, 61,2, 43,4, 14,4.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,17), 559,0 (4,19), 601,0 (3,75) nm.

SM (MALDI): m/z 988,3 $[M]^+$.

HRMS-ESI(+): m/z calculé $C_{56}H_{38}BrFN_6O_2Zn$ $[M]^+$. 988,1510, trouvé 988,1509.

**[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(4-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate] zinc (II) 53d**



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,95-8,90 (4H, m, H- β), 8,85 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H- β), 8,76 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H- β), 8,48 (1H, s, H-3), 8,37-8,35 (1H, m, H-Ph), 8,25-8,08 (6H, m, H-Ph), 7,97 (2H, AB, $J = 9,3$ Hz, H-3'',5''), 7,86-7,64 (12H, m, H-Ph), 7,43-7,39 (1H, m, H-Ph), 7,17 (2H, AB, $J = 9,3$ Hz, H-2'',6''), 5,52 (1H, dd, $J = 6,3$ et 12,3 Hz, H-5'), 4,34-4,26 (2H, m, CH₂CH₃), 3,53 (1H, dd, $J = 12,3$ et 18,3 Hz, H-4'*cis*), 3,30 (1H, dd, $J = 6,3$ et 18,3 Hz, H-4'*trans*), 1,42 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, CH₂CH₃).

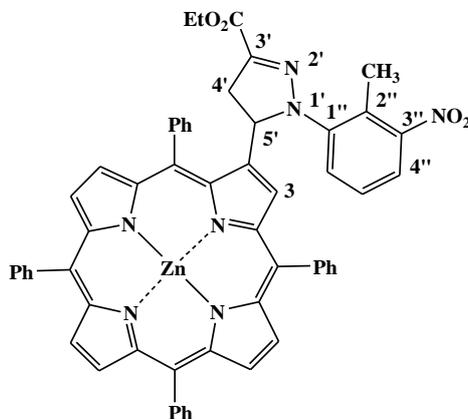
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 162,2, 150,6, 150,4, 147,6, 147,4, 142,7, 142,4, 140,6, 134,6, 134,5, 134,4, 134,0, 133,0, 132,45, 132,37, 132,0, 131,9, 129,03, 128,96, 127,7, 127,6, 127,5, 127,2, 126,6, 126,5, 125,3, 125,2, 117,4, 114,0, 61,7, 61,3, 43,8, 14,2.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ϵ) 428,0 (5,44), 560,0 (4,19), 600,0 (3,79) nm.

SM (MALDI): m/z 937,2 $[M]^+$

HRMS-ESI(+) m/z calculé $C_{56}H_{39}N_7O_4Zn$ $[M]^+$. 937,2355, trouvé 937,2334.

[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc (II) 53e.



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,91-8,87 (5H, m, H-β), 8,70-8,69 (2H, m, H-β), 8,31 (1H, d, J = 7,4 Hz, H-Ph), 8,22-8,14 (6H, m, H-Ph), 7,89-7,70 (12H, m, H-Ph), 7,63-7,61 (1H, m, H-Ph), 7,32 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-4'), 7,23 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-6'), 6,97 (1H, t, J = 8,2 Hz, H-5'), 5,69 (1H, dd, J = 10,9 et 12,5 Hz, H-5'), 4,32 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 3,50 (1H, dd, J = 12,5 et 18,3 Hz, H-4'*cis*), 3,28 (2H, dd, J = 10,9 et 18,3 Hz, H-4'*trans*), 2,41 (3H, s, CH₃), 1,34 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

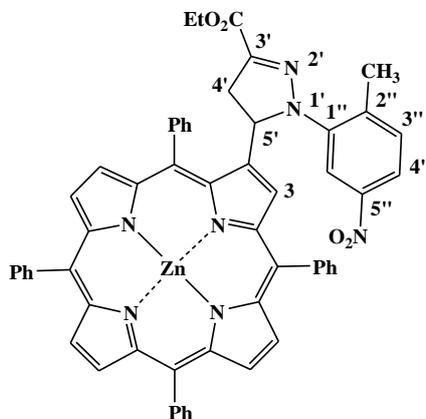
RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 162,7, 152,0, 150,7, 150,6, 150,5, 150,3, 150,2, 147,6, 145,3, 144,0, 143,5, 142,8, 142,5, 142,45, 142,43, 140,0, 134,4, 134,3, 134,1, 134,0, 133,0, 132,7, 132,5, 132,4, 132,3, 132,3, 132,2, 132,8, 129,0, 127,7, 127,6, 127,1, 127,1, 126,9, 126,59, 126,56, 126,1, 124,7, 121,8, 121,4, 120,7, 119,9, 119,7, 64,3, 61,3, 42,9, 15,8, 14,3.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,20), 559,0 (4,06), 599,0 (3,63) nm.

MS (MALDI): *m/z* 951,3 [M]⁺

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₁N₇O₄Zn [M]⁺. 951,2506, trouvé 951,2499.

[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc (II) 53f.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,92-8,86 (5H, m, H-β), 8,75-8,66 (2H, m, H-β), 8,32 (1H, d, J = 6,9 Hz, H-Ph), 8,22-8,11 (5H, m, H-Ph), 7,92-7,59 (13H, m, H-Ph et H-6''), 7,46 (1H, t, J = 8,1 Hz, H-Ph), 7,39-7,30 (1H, m, H-Ph), 7,08 (1H, AB, J = 8,8 Hz, H-4''), 6,92 (1H, AB, J = 8,8 Hz, H-3''), 5,61 (1H, dd, J = 10,4 et 12,3 Hz, H-5'), 4,29 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 3,49 (1H, dd, J = 12,3 et 17,8 Hz, H-4' cis), 3,25 (1H, dd, J = 10,4 et 17,8 Hz, H-4' trans), 2,32 (3H, s, CH₃), 1,33 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 162,7, 150,7, 150,7, 150,6, 150,4, 150,0, 147,6, 146,4, 145,2, 144,0, 142,8, 142,6, 142,5, 139,6, 139,2, 134,4, 134,3, 133,4, 133,3, 132,6, 132,45, 132,37, 132,3, 132,2, 132,1, 131,8, 129,1, 127,6, 127,0, 126,6, 126,3, 121,8, 121,3, 120,6, 120,2, 118,4, 114,3, 63,3, 61,3, 42,9, 20,9, 14,3.

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,12), 560,0 (4,12), 600,0 (3,70) nm.

MS (MALDI): *m/z* 951,3 [M]⁺.

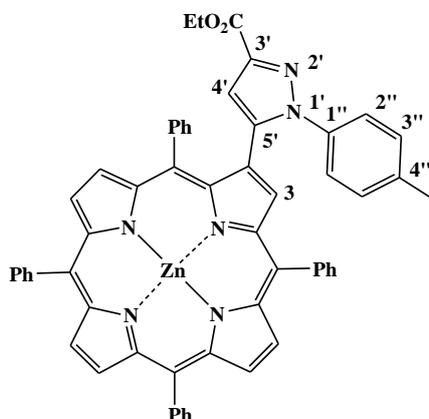
HRMS-ESI(+) *m/z* calculé C₅₇H₄₁N₇O₄Zn [M]⁺. 951,2506, trouvé 951,2499.

Déshydrogénation des pyrazolines 51c, 53b-f.

Procédure générale: (10 équiv.) de DDQ est ajouté à une solution de 51c, 53b-f (25,0 mg) dans le toluène anhydre. Le mélange est agité à reflux du toluène pour un temps varié de 5 à 20 heures. Le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante puis traité avec une solution aqueuse de NaHCO₃ et extrait avec CH₂Cl₂. La phase organique est séchée avec du Na₂SO₄ puis évaporé sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur couche mince en utilisant un mélange toluène/CH₂Cl₂ (1: 1). Les produits obtenus **54a-f** sont recristallisés avec un mélange CH₂Cl₂/hexane et isolés avec de bon rendements (Cf. tableau 2)

[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc

(II) 52c



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,94-8,91 (4H, m, H-β), 8,84-8,80 (2H, m, H-β), 8,71 (1H, d, J = 4,6 Hz, H-β), 8,25-8,04 (6H, m, H-Ph), 7,70-7,39 (14H, m, H-Ph), 7,23 et 7,17 (4H, AB, J = 8,5 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,61 (1H, s, H-4'), 4,47-4,40 (2H, m, CH₂CH₃), 2,35 (3H, s, CH₃), 1,46 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

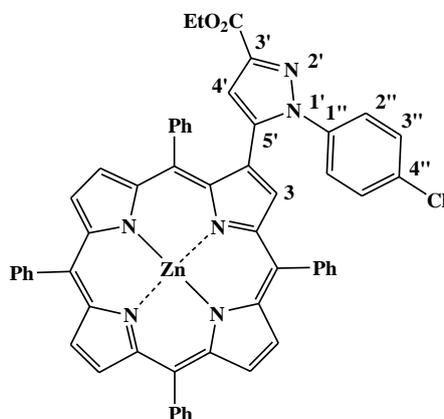
RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 163,4, 151,1, 150,8, 150,8, 150,0, 147,1, 146,0, 143,3, 142,5, 142,5, 142,3, 141,1, 137,7, 137,5, 136,8, 134,5, 134,4, 133,0, 132,8, 132,4, 132,3, 131,7, 129,6, 129,4, 129,0, 128,8, 128,5, 127,7, 127,6, 127,1, 126,63, 126,60, 126,5, 126,2, 124,2, 121,6, 121,5, 121,4, 121,3, 114,6, 112,8, 60,8, 20,7, 14,6.

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 429,5 (5,50), 561,5 (4,10), 604,5 (3,79) nm.

SM (MALDI): m/z 904,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₀N₆O₂Zn [M]⁺. 904,2499, trouvé 904,2500

[2-(1-(4-Chlorophényl)-3-éthoxycarbonyl-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc (II) 54b



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,96-8,91 (4H, m, H-β), 8,83 (1H, d, J = 4,7 Hz, H-β), 8,78 (1H, s, H-3), 8,83 (1H, d, J = 4,7 Hz, H-β), 8,22-8,18 (4H, m, H-Ph), 8,13-7,96 (2H, m, H-Ph), 7,79-7,65 (10H, m, H-Ph), 7,40-7,29 (4H, m, H-Ph), 7,16 (2H, AB, J = 9,0 Hz, H-3'',5''), 6,80 (2H, AB, J = 9,0 Hz, H-2'',6''), 6,50 (1H, s, H-4'), 4,30-4,27 (2H, m, CH₂CH₃), 1,39 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

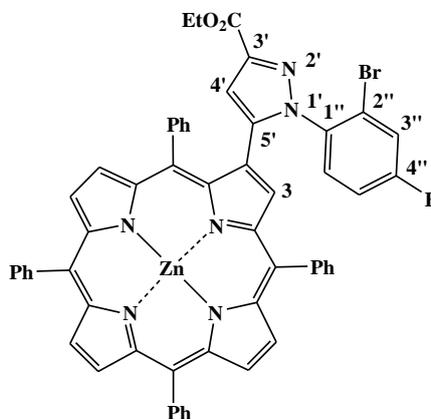
RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 162,1, 151,10, 150,95, 150,9, 150,0, 146,9, 146,3, 145,6, 143,7, 142,5, 142,4, 142,3, 141,0, 140,9, 138,4, 137,3, 135,8, 134,6, 134,53, 134,46, 134,4, 133,0, 132,6, 132,5, 132,4, 132,2, 131,8, 128,9, 128,63, 128,55, 128,5, 128,4, 127,8, 127,7, 127,64, 127,61, 126,8, 126,64, 126,60, 126,58, 126,1, 125,2, 124,2, 121,6, 121,5, 121,44, 121,41, 119,0, 113,1, 60,8, 14,4.

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 429,5 (5,74), 563,5 (4,38), 604,5 (4,11) nm.

MS (MALDI): *m/z* 948,3 [M+Na]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₆H₃₇ClN₆O₂Zn [M]⁺. 924,1953, trouvé 924,1947.

[2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-éthoxycarbonyl-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate]zinc (II) 54c.



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,93-8,89 (4H, m, H-β), 8,87 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,83 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,79 (1H, s, H-3), 8,20-8,18 (4H, m, H-Ph), 8,07-7,99 (2H, m, H-Ph), 7,94-7,88 (2H, m, H-Ph), 7,78-7,68 (9H, m, H-Ph), 7,46-7,42 (3H, m, H-Ph), 7,38-7,34 (2H, m, H-3'' et H-6''), 6,61-6,59 (1H, m, H-5''), 6,24 (1H, s, H-4'), 4,31 (2H, q, J = 7,2 Hz, CH₂CH₃), 1,42 (3H, t, J = 7,2 Hz, CH₂CH₃).

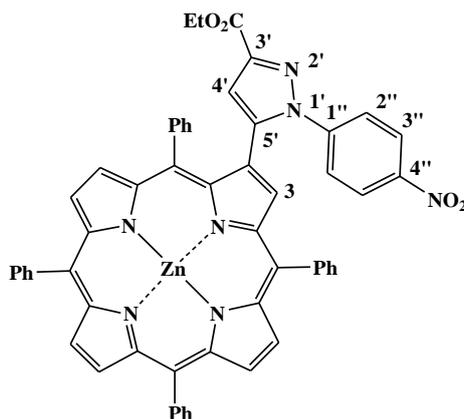
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 162,1, 151,0, 150,8, 150,2, 149,8, 146,9, 146,2, 144,0, 142,8, 142,7, 142,4, 142,2, 141,9, 141,7, 136,9, 135,8, 134,6, 134,4, 134,1, 133,0, 132,4, 132,2, 131,8, 130,8, 130,1, 127,8, 127,6, 127,5, 126,6, 126,5, 126,3, 121,6, 121,3, 121,3, 120,7, 114,8, 114,5, 111,7, 60,8, 14,6.

UV-vis (DMF): λ_{\max} (log ϵ) 430,5 (5,66), 564,0 (4,30), 602,0 (3,97) nm.

MS (MALDI): m/z 986,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₃₆BrFN₆O₂Zn [M]⁺. 986,1353, trouvé 986,1348

**[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(4-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate] zinc (II) 54d.**



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,96-8,82 (4H, m, H- β), 8,79 (1H, s, H-3), 8,69 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H- β), 8,63 (1H, d, $J = 4,9$ Hz, H- β), 8,21-8,04 (5H, m, H-Ph), 7,84-7,68 (9H, m, H-Ph), 7,59 (2H, AB, $J = 9,2$ Hz, H-3'',5''), 7,44-7,37 (3H, m, H-Ph), 7,33 (2H, AB, $J = 9,2$ Hz, H-2'',6''), 6,89-6,80 (3H, m, H-Ph), 6,63 (1H, s, H-4'), 4,47-4,41 (2H, m, CH₂CH₃), 1,48 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, CH₂CH₃).

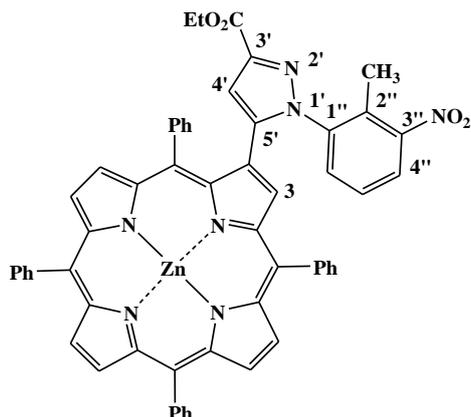
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 161,9, 151,1, 151,1, 150,9, 145,3, 144,6, 142,4, 142,3, 142,2, 140,7, 140,6, 140,4, 134,4, 133,0, 132,7, 132,6, 132,5, 132,0, 131,7, 128,6, 128,5, 128,4, 127,8, 127,7, 127,6, 126,6, 126,2, 125,2, 123,8, 123,2, 121,6, 121,0, 118,9, 114,1, 61,2, 14,5.

UV-vis (DMF): λ_{\max} (log ϵ) 429,0 (5,67), 562,0 (4,30), 600,0 (3,90) nm.

MS (MALDI): m/z 936,1 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₃₇N₇O₄Zn [M]⁺. 935,2198, trouvé 935,2207.

**[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-
tétraphénylporphyrinate]zinc(II) 54e.**



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,91-8,82 (6H, m, H-β), 8,37 (1H, s, H-3), 8,20-8,17 (5H, m, H-Ph), 8,12-7,92 (3H, m, H-Ph), 7,89-7,72 (12H, m, H-Ph), 7,62 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-4'), 7,46 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-6''), 6,86 (1H, t, J = 8,0 Hz, H-5''), 6,31 (1H, s, H-4'), 4,36-4,33 (2H, m, CH₂CH₃), 2,27 (3H, s, CH₃), 1,44 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

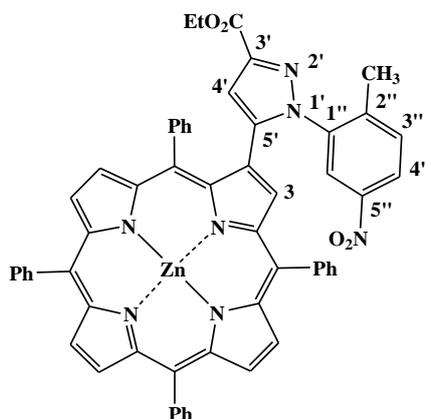
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 161,8, 151,0, 150,4, 149,8, 146,6, 145,9, 145,8, 144,8, 143,9, 142,41, 142,37, 142,1, 141,9, 141,0, 136,4, 134,6, 134,4, 134,3, 134,1, 133,9, 133,2, 133,0, 132,5, 132,3, 132,2, 131,9, 131,4, 130,6, 130,5, 127,9, 127,6, 126,6, 126,5, 126,2, 125,0, 123,5, 123,2, 121,6, 121,4, 121,2, 112,2, 111,8, 60,8, 15,0, 14,4.

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 430,5 (5,68), 564,0 (4,31), 604,0 (3,99) nm.

SM (MALDI): *m/z* 949,4 [M]⁺.

HRMS-ESI (+): *m/z* calculé C₅₇H₃₉N₇O₄Zn [M]⁺. 949,2349, trouvé 949,2343.

**[2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate] zinc (II) 54f.**



RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,93-8,89 (3H, m, H-β), 8,87 (2H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,83 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,40 (1H, s, H-3), 8,19-8,16 (4H, m, H-Ph), 8,19-8,16 (2H, m, H-Ph),

7,99 (1H dd, J = 2,3 et 8,6 Hz, H-4'), 8,85 (2H, d, J = 6,9 Hz, H-Ph), 7,77-7,71 (8H, m, H-Ph et H-6'), 7,62 (2H, t, J = 7,8 Hz, H-Ph), 7,54-7,51 (3H, m, H-Ph), 7,39 (1H, d, J = 8,6 Hz, H-3'), 6,42 (1H, s, H-4'), 4,36 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,23 (3H, s, CH₃), 1,43 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ = 161,9, 151,05, 151,01, 150,9, 149,7, 146,4, 145,7, 144,8, 144,1, 142,44, 142,39, 142,3, 141,9, 139,7, 136,4, 134,5, 134,4, 134,4, 134,1, 133,2, 132,4, 132,2, 132,1, 131,4, 130,5, 128,4, 128,0, 127,6, 126,8, 126,6, 126,3, 123,5, 123,2, 121,6, 121,4, 121,3, 120,9, 112,2, 60,9, 18,4, 14,5

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 431,5 (5,66), 566,0 (4,36), 606,0 (4,06) nm.

SM (MALDI): m/z 949,2 [M]⁺.

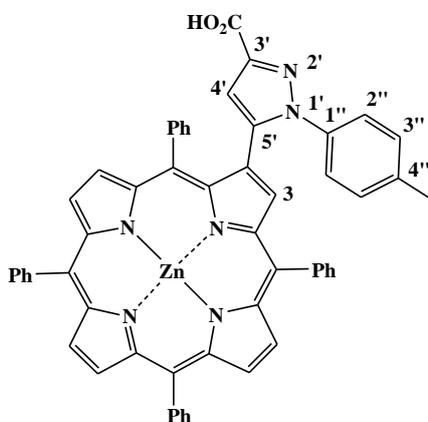
HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₃₉N₇O₄Zn [M]⁺. 949,2349, trouvé 949,2346.

L'hydrolyse acide du groupe ester du porphyrine-pyrazoline: Synthèse des porphyrine-pyrazoles fonctionnalisés par un groupe acide 57a-f.

Procédure générale : A une solution du dérivé de porphyrine-4,5-dihydropyrazoline 51c, 53b-f (15,0 mg) dans le THF (0,75 ml) et la pyridine (75,0 μL), on ajoute une solution de KOH (250,0 mg) dans le MeOH (1,5 ml). Le mélange est agité une heure à une température de 80°C puis refroidit à température ambiante. Ensuite, le mélange est ajouté a une solution saturé d'acide citrique et extrait par CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée avec Na₂SO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est purifié en utilisant une chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant CHCl₃/MeOH 95: 5). Les produits 57a-f sont obtenus avec de bons rendements (Cf. tableau 3) après recristallisation avec un mélange CH₂Cl₂/hexane.

[2-(3-Carboxy-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate]zinc(II)

57a.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,85-8,60 (7H, m, H-β), 8,21-8,16 (4H, m, H-Ph), 8,08-7,88 (2H, m, H-Ph), 7,79-7,63 (9H, m, H-Ph), 7,60-7,41 (5H, m, H-Ph), 7,24 et 7,17 (4H, AB, J = 7,8 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,57 (1H, s, H-4'), 2,36 (3H, s, CH₃).

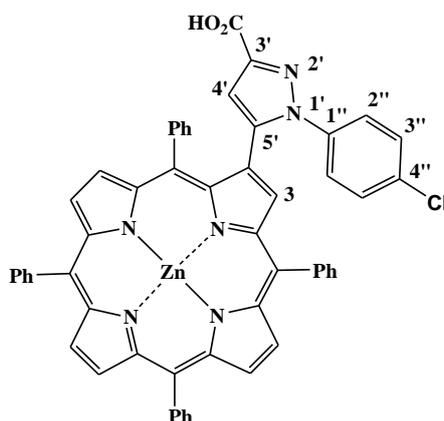
UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 427,5 (5,62), 562,5 (4,29), 600,0 (3,94) nm.

MS (MALDI): *m/z* 887,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₅H₃₆N₆O₂Zn [M]⁺. 886,2186, trouvé 886,21803.

[2-(3-Carboxy-1-(4-chlorophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate]

zinc (II) 57b.



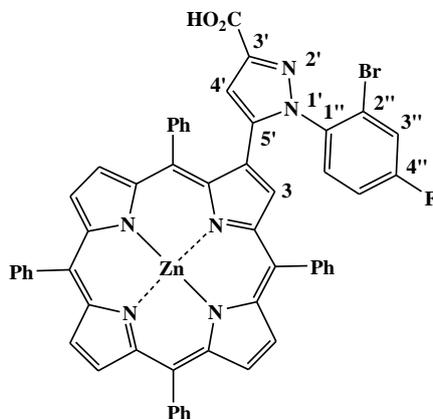
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,95-8,81 (6H, m, H-β), 8,81 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,50-8,41 (1H, m, HPh), 8,14-8,26 (7H, m, H-Ph), 7,84-7,61 (9H, m, H-Ph), 7,51-7,43 (3H, m, H-Ph), 7,14 et 7,05 (4H, AB, J = 9,2 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,91 (1H, s, H-4').

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 427,0 (5,43), 560,0 (4,17), 601,0 (3,75) nm.

MS (MALDI): *m/z* 897,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₅H₃₃ClN₆O₂Zn [M]⁺. 896,1791, trouvé 896,1796.

**[2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-carboxy-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate]zinc (II) 57c.**



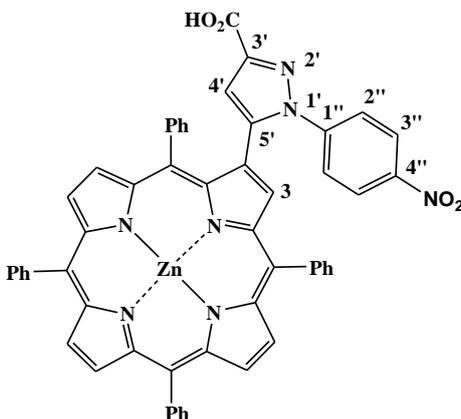
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,84-8,76 (7H, m, H-β), 8,20-8,18 (5H, m, H-Ph), 7,83-7,60 (11H, m, H-Ph), 7,52-7,39 (4H, m, H-Ph), 7,24-7,15 (2H, m, H-5'' et H-6''), 6,79-6,72 (1H, m, H-3'), 6,43 (1H, s, H-4').

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 427,5 (5,66), 561,0 (4,28), 600,0 (3,75) nm.

MS (MALDI): *m/z* 959,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₄H₃₂BrFN₆O₂Zn [M]⁺. 958,1080, trouvé 958,1039.

**[2-(3-Carboxy-1-(4-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrinate] zinc
(II) 57d.**



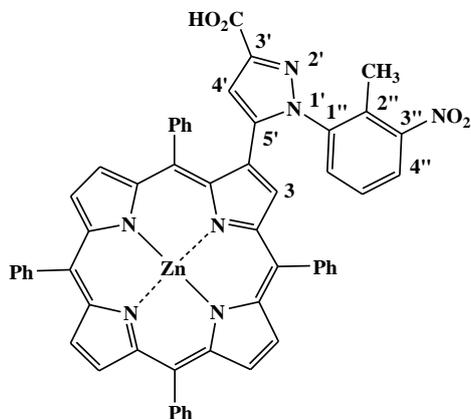
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,76-8,60 (6H, m, H-β), 8,47 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,16-8,07 (8H, m, HPh), 7,68-7,65 (12H, m, H-Ph), 7,16 et 7,07 (4H, AB, J = 7,5 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,65 (1H, s, H-4').

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 428,0 (5,67), 561,0 (4,36), 601,0 (3,97) nm.

MS (MALDI): *m/z* 908,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₄H₃₃N₇O₄Zn [M]⁺. 907,2037, trouvé 907,2034.

**[2-(3-Carboxy-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate] zinc (II) 57e.**



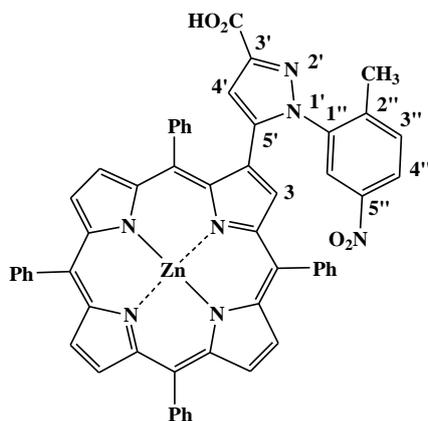
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,86-8,70 (6H, m, H-β), 8,48 (1H, d, J = 4,8 Hz, H-β), 8,20-8,18 (8H, m, H-Ph), 7,68-7,65 (12H, m, H-Ph), 7,24-7,15 (2H, m, H-4'' et H-6''), 6,79-6,72 (1H, m, H-5'), 6,48 (1H, s, H-4'), 2,35 (3H, s, CH₃).

UV-Vis (DMF): λ_{max} (log ε) 427,5 (5,79), 561,0 (4,44), 602,0 (3,75) nm.

MS (MALDI): *m/z* 922,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₅H₃₅N₇O₄Zn [M]⁺. 921,2193, trouvé 921,2190

**[2-(3-Carboxy-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrinate] zinc (II) 57f.**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,83-8,77 (7H, m, H-β), 8,38-8,05 (8H, m, H-Ph), 7,85-7,46 (13H, m, H-Ph et H-6''), 7,24-7,15 (2H, m, H-4'' et H-5''), 6,52 (1H, s, H-4'), 2,35 (3H, s, CH₃).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 427,5 (5,72), 561,0 (4,34), 602,0 (3,75) nm.

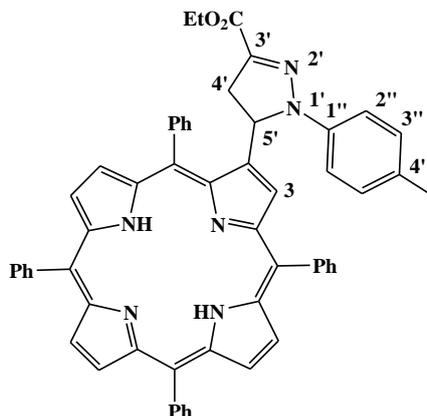
MS (MALDI): *m/z* 922,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₅H₃₅N₇O₄Zn [M]⁺. 921,2193, trouvé 921,2189.

Décomplexation de la porphyrine métallée de Cu (II).

Mode opératoire générale : La porphyrine métallée par Cu (II) 51b ou 52b ($1,7 \times 10^{-2}$ mmoles) est dissous dans 1,0 ml de CHCl_3 . A cette solution 0,1 mL de H_2SO_4 conc. est ajouté. Le mélange est agité à température ambiante pendant 15 min. Après ce temps, le mélange est versé sur la glace et neutralisé soigneusement avec une solution saturée de Na_2CO_3 et on extrait avec du CH_2Cl_2 . La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 et le solvant est évaporé sous pression réduite. Les produits respectifs **51d** et **52d** sont obtenus avec un rendement quantitatif après recristallisation avec un mélange CH_2Cl_2 / hexane.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl porphyrine, 51d.



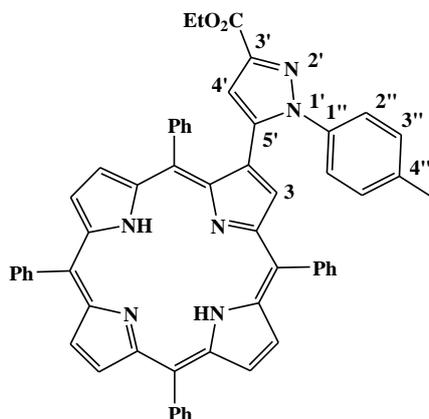
RMN¹H (300 MHz, CDCl_3): δ 8,87-8,73 (5H, m, H- β), 8,54 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H- β), 8,46 (1H, s, H-3), 8,36-8,33 (1H, m, H-Ph), 8,22-8,14 (6H, m, H-Ph), 7,84-7,68 (12H, m, H-Ph), 7,54-7,33 (1H, m, H-Ph), 7,02 et 6,86 (4H, AB, $J = 8,6$ Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 5,36 (1H, dd, $J = 7,2$ et 13,1 Hz, H-5'), 4,32-4,21 (2H, m, CH_2CH_3), 3,40 (1H, dd, $J = 13,1$ et 17,9 Hz, H-4' *cis*), 3,23 (1H, dd, $J = 7,2$ et 17,9 Hz, H-4' *trans*), 2,16 (3H, s, CH_3), 1,30 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, CH_2CH_3), -2,76 (2H, m, NH).

UV-vis (CHCl_3): λ_{max} (log ϵ) 419,5 (5,22), 515,5 (4,24), 549,5 (3,82), 592,5 (3,70), 648,0 (3,55) nm.

MS (MALDI): m/z 845,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS-ESI(+): m/z calculé $\text{C}_{57}\text{H}_{45}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 845,3599, trouvé 845,3613.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl porphyrine, 52d.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,87 (2H, AB, J = 4,9 Hz, H- β), 8,81-8,77 (3H, m, H- β), 8,67 (1H, d, J = 5,0 Hz, H- β), 8,64 (1H, s, H-3), 8,23-8,17 (4H, m, H-Ph), 8,05 (2H, d, J = 6,8 Hz, H-Ph), 7,87 (2H, d, J = 6,4 Hz, H-Ph), 7,80-7,63 (9H, m, H-Ph), 7,48-7,43 (3H, m, H-Ph), 7,23-7,16 (4H, m, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,67 (1H, s, H-4'), 4,55-4,43 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,36 (3H, s, CH₃), 1,49 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,69 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ϵ) 421,0 (5,54), 518,0 (4,24), 552,5 (3,82), 596,0 (3,74), 650,5 (3,74) nm.

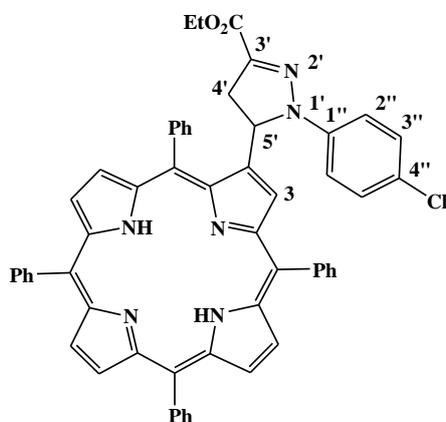
MS (MALDI): m/z 842,2 [M]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₃N₆O₂ [M+H]⁺ 843,3442, trouvé 843,3460.

Décomplexation de la porphyrine métallée de Zn (II).

Mode opératoire générale : A une solution du complexe porphyrinique de Zn (II) 53b-f, **54b-f** ou **57a-f** (20,0 mg) dissout dans 1,0 mL de CH₂Cl₂, 0,05 ml de TFA est ajouté. Le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 5 min, puis neutralisé avec une solution saturée de NaHCO₃ et extrait avec CH₂Cl₂. La phase organique est séchée avec Na₂SO₄ et le solvant est évaporé sous pression réduite. Les produits respectifs **55b-f**, **56b-f** et **58a-f** sont obtenus avec des rendements quantitatifs après recristallisation avec un mélange CH₂Cl₂/hexane.

2-(1-(4-Chlorophényl)-3-éthoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 55b



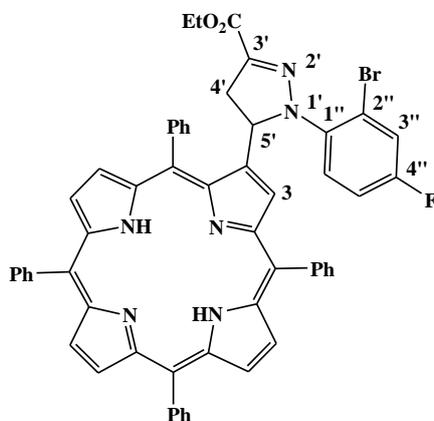
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,86-8,72 (5H, m, H-β), 8,66 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,38 (1H, s, H-3), 8,37-8,35 (1H, m, H-Ph), 8,21-8,15 (6H, m, H-Ph), 7,85-7,69 (12H, m, H-Ph), 7,53-7,41 (1H, m, H-Ph), 7,07 e 7,03 (4H, AB, J = 9,8 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 5,48 (1H, dd, J = 6,9 et 12,9 Hz, H-5'), 4,30-4,19 (2H, m, CH₂CH₃), 3,40 (1H, dd, J = 12,9 et 18,2 Hz, H-4'*cis*), 3,22 (1H, dd, J = 6,9 et 18,2 Hz, H-4'*trans*), 1,29 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,75 (2H, s, NH).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 426,5 (5,40), 515,5 (4,03), 558,5 (4,03), 598,0 (3,73), 647,5 (3,30) nm.

MS (MALDI): *m/z* 865,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₄ClN₆O₂ [M+H]⁺ 865,3052, trouvé 865,3040.

2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-éthoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 55c.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,84-8,71 (6H, m, H-β), 8,57 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,26-8,09 (6H, m, H-Ph), 7,84-7,67 (13H, m, H-Ph), 7,23 (1H, dd, J = 2,9 et 8,0 Hz, H-3'), 7,02

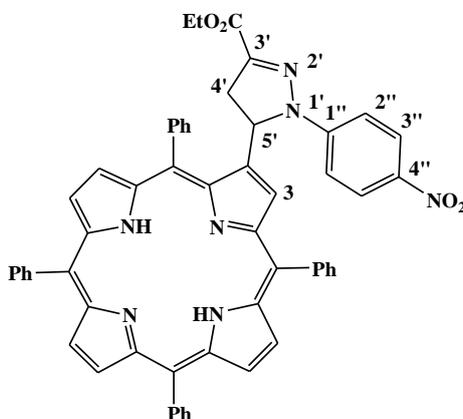
(1H, dd, J = 2,9 et 8,0 Hz, H-6'), 6,83-6,76 (1H, m, H-5'), 6,01 (1H, dd, J = 8,9 et 12,6 Hz, H-5'), 4,32 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 3,50 (1H, dd, J = 12,6 et 18,2 Hz, H-4' H-4' cis), 3,38 (1H, dd, J = 8,9 et 18,2 Hz, H-4' trans), 1,34 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,83 (2H, s, NH).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 419,5 (5,37), 515,5 (4,26), 549,5 (3,83), 591,5 (3,73), 647,5 (5,56) nm.

MS (MALDI): m/z 927,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₄₁BrFN₆O₂ [M+H]⁺ 927,2453, trouvé 927,2475.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(4-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl porphyrine, 55d.



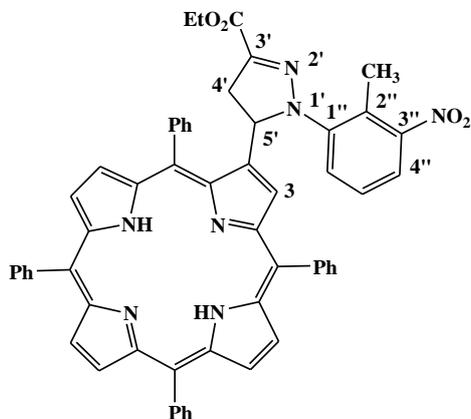
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,87-8,79 (4H, m, H-β), 8,77 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,70 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,43-8,36 (1H, m, H-Ph), 8,31 (1H, s, H-3), 8,27-8,09 (6H, m, H-Ph), 8,00 (2H, AB, J = 9,5 Hz, H-3'',5'), 7,90-7,61 (12H, m, H-Ph), 7,46-7,34 (1H, m, H-Ph), 7,17 (2H, AB, J = 9,5 Hz, H-2'',6''), 5,52 (1H, dd, J = 6,0 et 12,3 Hz, H-5'), 4,34-4,22 (2H, m, CH₂CH₃), 3,44 (1H, dd, J = 12,3 et 18,4 Hz, H-4' H-4' cis), 3,28 (1H, dd, J = 6,0 et 18,4 Hz, H-4' H-4' trans), 1,31 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,77 (2H, s, NH).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 419,5 (5,43), 515,5 (4,28), 551,0 (3,85), 593,0 (3,74), 647,5 (3,60) nm.

MS (MALDI): m/z 876,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₄₂N₇O₄ [M+H]⁺ 876,3293, trouvé 876,3304.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 55e.



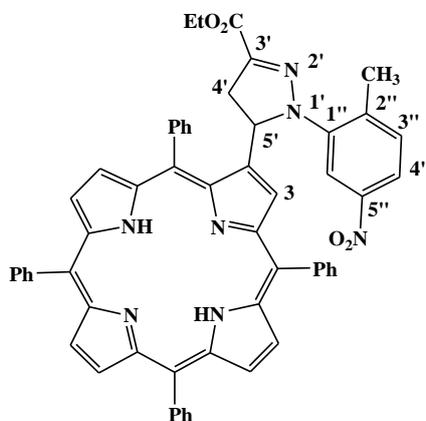
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,83-8,76 (5H, m, H-β), 8,62 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,54 (1H, s, H-3), 8,33 (1H, d, J = 6,9 Hz, H-Ph), 8,25-8,13 (7H, m, H-Ph), 7,90-7,69 (11H, m, H-Ph), 7,62-7,59 (1H, m, H-Ph), 7,36 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-6''), 7,19 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-4''), 6,98 (1H, t, J = 8,2 Hz, H-5''), 5,66 (1H, dd, J = 10,9 et 12,1 Hz, H-5'), 4,30 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 3,47 (1H, dd, J = 12,1 et 17,8 Hz, H-4' cis), 3,22 (1H, dd, J = 10,9 et 17,8 Hz, H-4' trans), 2,40 (3H, s, CH₃), 1,34 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,82 (1H, s, NH).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 419,5 (5,53), 515,0 (4,25), 550,0 (3,82), 591,5 (3,72), 646,5 (3,56) nm.

MS (MALDI): *m/z* 890,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₄N₇O₄ [M+H]⁺ 890,3449, trouvé 890,3417.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 55f.



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,81-8,54 (5H, m, H-β), 8,69 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,56 (1H, s, H-3), 8,37-8,33 (2H, m, H-Ph), 8,21-8,10 (6H, m, H-Ph), 7,96-7,65 (13H, m, H-Ph et

H-6''), 7,24 et 7,19 (2H, AB, J = 8,5 Hz, H-3'' et H-4''), 5,59 (1H, dd, J = 10,5 et 12,9 Hz, H-5'), 4,30 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 3,52 (1H, dd, J = 12,9 et 17,7 Hz, H-4'cis), 3,21 (1H, dd, J = 10,5 et 17,7 Hz, H-4'trans), 2,46 (3H, s, CH₃), 1,33 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,82 (2H, s, NH).

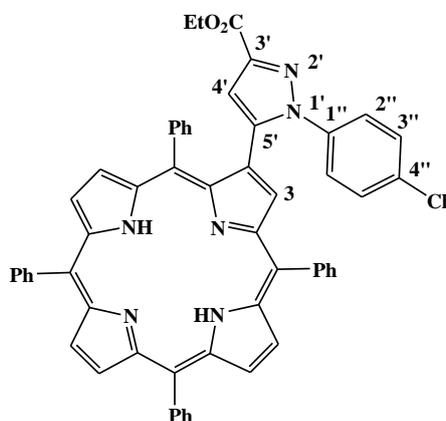
UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) 420,0 (5,21), 516,5 (4,28), 550,5 (3,91), 593,5 (3,78), 648,0 (3,71) nm.

MS (MALDI): m/z 890,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₄N₇O₄ [M+H]⁺ 890,3449, trouvé 890,3434.

2-(1-(4-Chlorophényl)-3-éthoxycarbonyl-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl porphyrine

56b



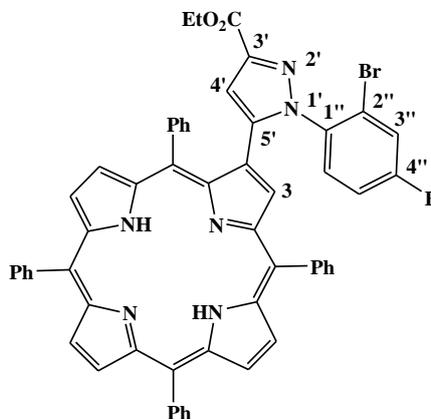
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,89 (2H, AB, J = 4,9 Hz, H-β), 8,81-8,77 (3H, m, H-β), 8,67 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,61 (1H, s, H-3), 8,23-8,18 (4H, m, H-Ph), 8,08 (2H, d, J = 7,4 Hz, H-Ph), 7,85-7,66 (11H, m, H-Ph), 7,47-7,42 (3H, m, H-Ph), 7,22 et 6,85 (4H, AB, J = 8,9 Hz, H-3'',5'' et H-2'',6''), 6,73 (1H, s, H-4'), 4,49 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 1,49 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,69 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 421,5 (5,60), 518,5 (4,31), 553,5 (3,87), 597,5 (3,79), 651,5 (3,79) nm.

MS (MALDI): m/z 862,3 [M]⁺

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₄₀ClN₆O₂ [M+H]⁺ 863,2896, trouvé 863,2894.

**2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-éthoxycarbonyl-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrine, 56c.**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,81-8,77 (6H, m, H-β), 8,59 (1H, s, H-3), 8,22-8,11 (6H, m, H-Ph), 7,90 (2H, d, J = 7,2 Hz, H-Ph), 7,92-7,66 (9H, m, H-Ph), 7,59-7,51 (5H, m, H-Ph), 7,47-7,38 (2H, m, H-3'' et H-6''), 6,74 (1H, dt, J = 2,8, 8,2 Hz, H-5''), 6,41 (1H, s, H-4''), 4,47 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 1,48 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,74 (2H, s, NH).

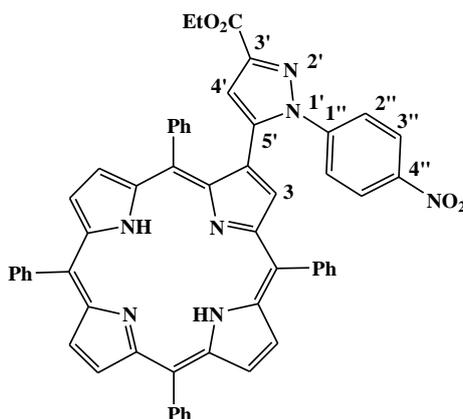
UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 422,0 (5,54), 518,0 (4,28), 555,0 (3,84), 597,0 (3,76), 652,0 (3,75) nm.

MS (MALDI): *m/z* 925,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₄BrFN₆O₂ [M]⁺. 924,2453, trouvé 924,2486.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(4-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl porphyrine

56d



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 8,91 (2H, AB, J = 4,9 Hz, H-β), 8,80-8,75 (4H, m, H-β), 8,62 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-β), 8,23-8,13 (6H, m, H-Ph), 7,81-7,67 (11H, m, H-Ph), 7,64 (2H, AB, J = 7,2 Hz, H-3'',5''), 7,49-7,41 (3H, m, H-Ph), 7,36 (2H, AB, J = 7,2 Hz, H-2'',6''), 6,91 (1H,

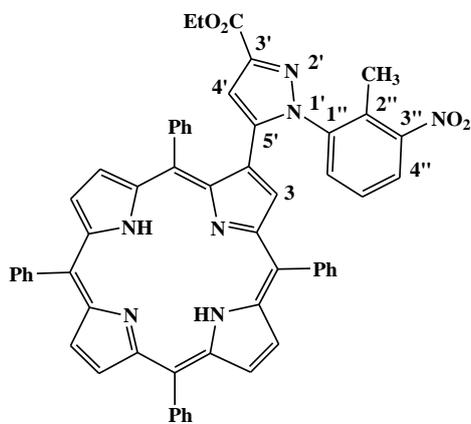
s, H-4'), 4,53 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 1,51 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,69 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 422,0 (5,61), 517,0 (5,35), 555,0 (3,94), 595,0 (3,90), 650,0 (3,91) nm.

MS (MALDI): m/z 874,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₆H₄₀N₇O₄ [M+H]⁺ 874,3136, trouvé 874,3130.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 56e.



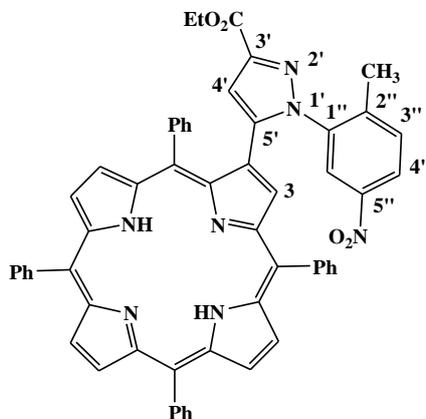
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,86-8,76 (6H, m, H-β), 8,23-8,12 (8H, m, H-3 et H-Ph), 7,87-7,54 (15H, m, HPh, H-4'' et H-6''), 6,99 (1H, t, J = 8,1 Hz, H-5''), 6,46 (1H, s, H-4'), 4,48 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,27 (3H, s, CH₃), 1,48 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,75 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 423,0 (5,30), 519,0 (4,03), 556,0 (3,72), 601,0 (3,60), 652,0 (3,55) nm.

MS (MALDI): m/z 888,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₇H₄₂N₇O₄ [M+H]⁺ 888,3293, trouvé 888,3265.

2-(3-Ethoxycarbonyl-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 56f.



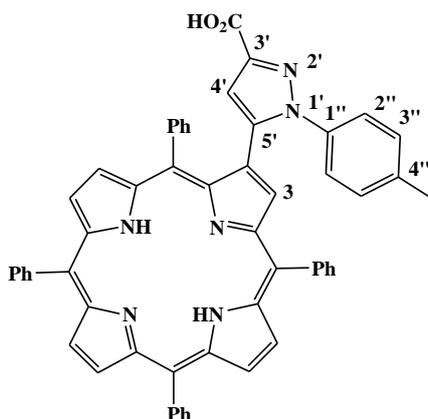
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,85-8,80 (4H, m, H-β), 8,76 (2H, AB, J = 4,9 Hz, H-β), 8,31 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-6''), 8,23 (1H, s, H-3), 8,22-8,16 (6H, m, H-Ph), 8,05 (1H, dd, J = 2,4 et 8,6 Hz, H-4''), 7,86 (1H, d, J = 7,5 Hz, H-Ph), 7,80 (8H, m, H-Ph), 7,65-7,58 (5H, m, H-Ph), 7,92 (1H, d, J = 8,6 Hz, H-3''), 6,55 (1H, s, H-4'), 4,48 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,19 (3H, s, CH₃), 1,48 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), -2,74 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 424,0 (5,31), 522,0 (4,06), 557,0 (3,63), 600,0 (3,56), 651,5 (3,59) nm.

MS (MALDI): *m/z* 887,3 [M]⁺

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₂N₇O₄ [M+H]⁺ 888,3293, trouvé 888,3273.

2-(3-Carboxy-1-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine 58a.



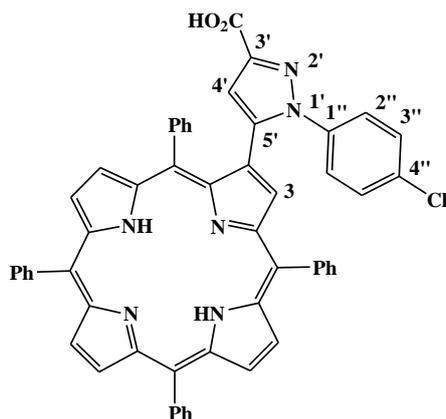
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,89-8,62 (5H, m, H-β), 8,67-8,56 (2H, m, H-β), 8,24-8,18 (6H, m, H-Ph), 7,92-7,73 (9H, m, H-Ph), 7,47-7,31 (5H, m, H-Ph), 7,14 et 7,10 (4H, AB, J = 8,1 Hz, H-2'', 6'' et H-3'', 5''), 6,64 (1H, s, H-4'), 2,27 (3H, s, CH₃).

UV-vis (DMF): λ_{\max} (log ϵ) 419,5 (5,63), 515,5 (4,37), 549,5 (3,99), 594,0 (3,85), 646,5 (3,69) nm.

MS (MALDI): m/z 815,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₅H₃₉N₆O₂ [M+H]⁺ 815,3129, trouvé 815,3099.

2-(3-Carboxy-1-(4-chlorophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine 58b



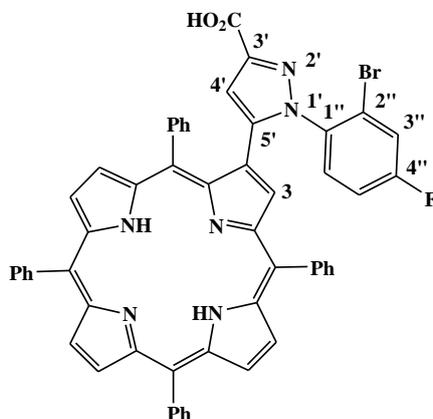
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,89-8,62 (7H, m, H- β), 8,23-8,19 (4H, m, H-Ph), 8,09-7,98 (2H, m, H-Ph), 7,83-7,74 (7H, m, H-Ph), 7,68-7,61 (2H, m, H-Ph), 7,46-7,35 (5H, m, H-Ph), 7,16 et 6,84 (4H, AB, J = 7,9 Hz, H-2'', 6'' et H-3'', 5''), 6,74 (1H, s, H-4').

UV-vis (DMF): λ_{\max} (log ϵ) 421,5 (5,68), 518,5 (4,40), 552,5 (3,98), 596,5 (3,85), 653,5 (3,83) nm.

MS (MALDI): m/z 835,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): m/z calculé C₅₄H₃₆ClN₆O₂ [M+H]⁺ 835,2583, trouvé 835,2594.

2-(1-(2-Bromo-4-fluorophényl)-3-carboxy-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 58c.



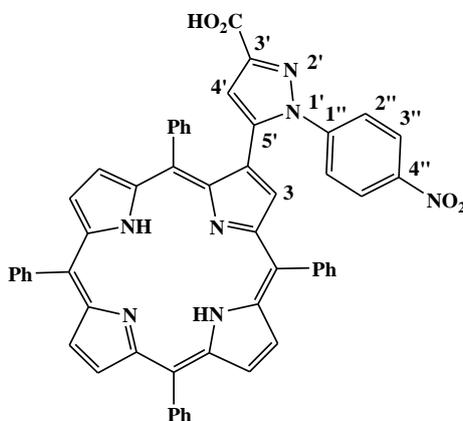
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃:CD₃OD): δ 8,83-8,59 (7H, m, H-β), 8,20-8,06 (7H, m, H-Ph), 7,89-7,47 (13H, m, H-Ph), 7,26-7,15 (2H, m, H-3'' et H-6''), 6,84-6,82 (1H, m, H-5''), 6,43 (1H, s, H-4').

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 420,0 (5,60), 516,0 (4,32), 549,0 (3,96), 593,0 (3,83), 650,0 (3,65) nm.

MS (MALDI): *m/z* 897,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₇H₄₄BrFN₆O₂ [M+H]⁺ 897,1983, trouvé 897,1988.

2-(3-Carboxy-1-(4-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphénylporphyrine, 58d.



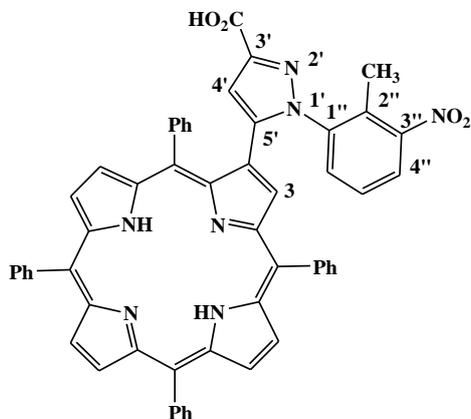
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,89 (7H, m, H-β), 8,21-8,15 (8H, m, H-Ph), 7,80-7,63 (12H, m, H-Ph), 7,25 et 7,18 (4H, AB, J = 7,4 Hz, H-2'',6'' et H-3'',5''), 6,88 (1H, s, H-4'), - 2,72 (2H, s, NH).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 420,0 (5,49), 516,0 (4,25), 550,0 (3,85), 593,0 (3,74), 648,0 (3,60) nm.

MS (MALDI): *m/z* 846,3 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₄H₃₆N₇O₄ [M+H]⁺ 846,2979, trouvé 846,2953.

**2-(3-Carboxy-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrine, 58e.**



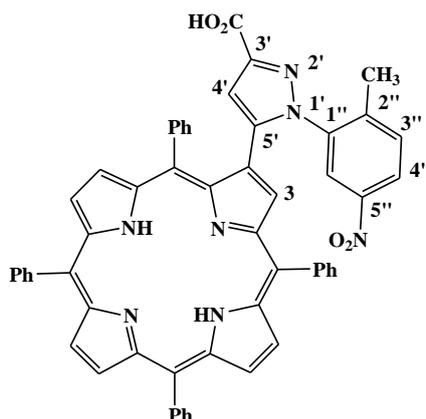
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,84-8,78 (7H, m, H-β), 8,20-8,18 (8H, m, H-Ph), 7,97-7,68 (9H, m, H-Ph), 7,66-7,53 (4H, m, H-Ph et H-6''), 7,23 (1H, d, J = 7,1 Hz, H-4''), 7,10 (1H, t, J = 7,1 Hz, H-5''), 6,46 (1H, s, H-4'), 2,25 (3H, s, CH₃).

UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 423,0 (5,54), 520,0 (4,28), 553,0 (3,90), 598,0 (3,77), 652,5 (3,75) nm.

MS (MALDI): *m/z* 860,2 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+): *m/z* calculé C₅₅H₃₈N₇O₄ [M+H]⁺ 860,2980, trouvé 860, 2963.

**2-(3-Carboxy-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-1H-pyrazol-5-yl)-5,10,15,20-tétraphényl
porphyrine, 58f.**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 8,84-8,59 (7H, m, H-β), 8,34-8,16 (8H, m, H-Ph), 8,02-7,38 (15H, m, H-Ph, H-3'', H-4'' et H-6''), 6,58 (1H, s, H-4'), 2,26 (3H, s, CH₃).

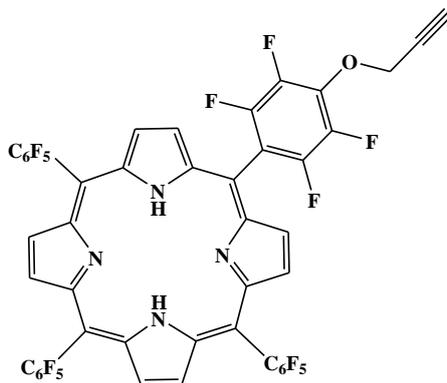
UV-vis (DMF): λ_{max} (log ε) 423,0 (5,42), 521,0 (4,18), 553,0 (3,84), 596,0 (3,69), 652,0 (3,70) nm.

MS (MALDI): *m/z* 860,2 [M+H]⁺

HRMS-ESI(+): m/z calculé $C_{55}H_{38}N_7O_4$ $[M+H]^+$ 860,2980, trouvé 860, 2961

Synthèse de porphyrine propargylique monosubstitué 50

Mode opératoire: Un équivalent de propargyl d'alcool et trois équivalents de *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine dans DMSO en présence de K_2CO_3 , le mélange réactionnel est agité à une température de 50 °C pendant quatre heures, puis extrait par CH_2Cl_2 et purifié par chromatographie sur colonne on utilise comme éluant CH_2Cl_2 /Ether de pétrole 1:3.



Rdt: 78%.

PF (°C): >300°C

RMN¹H (300MHz, CDCl₃): δ - 2.91 (s, 2H, 2NH), 2.81 (t, 1H, J = 2.4 Hz, CH), 5.22 (d, 2H, J= 2.4 Hz, CH₂), 8.91-8.96 (m, 8H, β Pyrolique).

RMN¹⁹F (282.38 MHz, CDCl₃): -160.10 à -159.99 (m, 6F, F ortho), -160.89 à -161.10 (m, 2F ortho), -174.85 à -174.70 (t, 3F para), -178.91 à -178.79 (m, 2F meta), -184.97 à -184.80 (m, 6F, Ar-ortho-F).

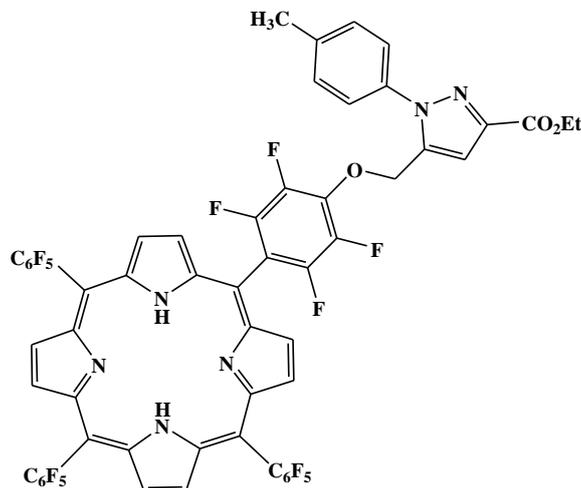
UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ϵ) = 426 (5.47), 520 (4.37), 597 (3.85) nm.

Réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 de *méso*-tétrakis(pentafluorophényl)porphyrine propargylique 50 avec les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines.

Mode opératoire générale : On dissout 20 mg de porphyrine propargylique monosubstituée et 5 équivalent du dipôle approprié dans le minimum de toluène sèche, quelques mg de K_2CO_3 sont ajoutés, le mélange réactionnel est porté à reflux de toluène dans un bain de huile, sous atmosphère d'azote et sous agitation magnétique, la réaction est contrôlé par CCM, après 24 heures d'agitation, le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante, puis extrait par CH_2Cl_2 . On obtient après purification par chromatographie sur colonne de silice (CH_2Cl_2 / éther de pétrole: 2/1) et purification par chromatographie sur plaque préparative de silice on utilise

comme éluant le mélange (CH₂Cl₂/éther de pétrole : 1/1) les cycloadduits pyrazole- porphyrine escomptés.

**5-[4-Méthoxy-(1(4-méthylphényl)-3-éthoxycarbonylpyrazol)tétrafluoro]phényl 10,15,20,tri
(pentafluorophénylporphyrine 59a**



RMN¹H (300MHz, CDCl₃) : -2,92 (2H, s, 2NH), 1,47 (3H, t, J= 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,49 (3H, s, CH₃Ar), 4,51 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 5,53 (2H, s, CH₂O), 7,20 (1H, s, CH pyrazole), 7,42 (2H, d, J = 8.1 Hz, 2H-Ar), 7,69 (2H, d, J = 8,1 Hz, 2H-Ar), 8,91(s, 8H, H-β).

RMN¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,4, 21,2, 59,0, 61,3, 112,1, 112,8, 114,6, 125,4 (2CHAr), 130,0 (2CHAr), 132,6, 136,0, 138,2, 139,6, 144,2, 186,8.

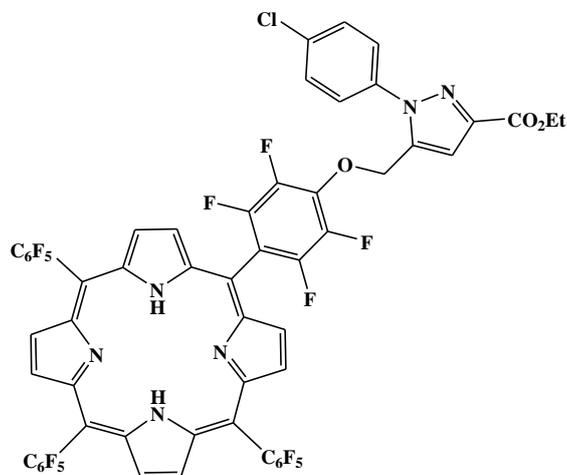
RMN¹⁹F (282.38 MHz, CDCl₃): -160,10 à -159,99 (m, 6F, F ortho), -161,32 à -161,21 (m, 2F ortho), -174,87 à 174,72 (t, 3F para), -178,87 à -178,76 (m, 2F meta), -184,98 à -184,80 (m, 6F meta).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) = 413 (5.57), 507 (4.46), 583 (3.99) nm

MS (MALDI): m/z = 1215,1 [M+H]⁺

HRMS-ESI(+) : m/z calculé C₅₈H₂₆F₁₉N₆O₃ [M+H]⁺ 1215.16847, trouvé 1215.17429.

**5-[4-Méthoxy-(1-(4-Chlorophényl)-3-éthoxycarbonylpyrazol)tétrafluoro]phényl-10,15,20-tri
(pentafluorophénylporphyrine) 59b**



RMN¹H (300MHz, CDCl₃): -2,92 (2H, s, 2NH), 1,47 (3H, t, J= 7,1 Hz, CH₂CH₃), 4,51 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 5,52 (2H, s, CH₂O), 7,29 (1H, s, CH-pyrazole), 7,62 et 7,82 (4H, AB, J = 6,7 Hz et 2,0 Hz, H-Ar), 8,91(s, 8H, H-β).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 14,4, 61,5, 62,4, 103,5, 107,3, 112,7, 115,5, 126,8, 129,8, 131,5, 132,2, 136,6, 137,0, 138,3, 139,4, 144,7, 144,9.

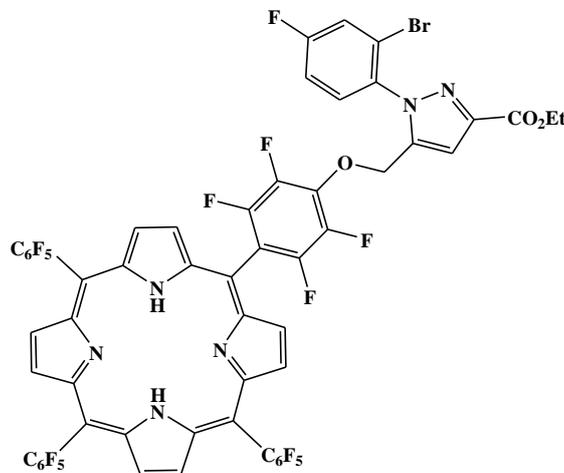
RMN¹⁹F (282.38 MHz, CDCl₃-d): -160,10 à -159,99 (m, 6F, F ortho), -160,89 à -161,10 (m, 2F ortho), -174,85 à 174,70 (t, 3F para), -178,91 à -178,79 (m, 2F meta), -184,97 à -184,80 (m, 6F meta).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε) = 413(4.73), 507(4.58), 583(4.08) nm.

MS (MALDI): m/z = 1235,1 [M+H]⁺

HRMS-ESI(+) m/z calculé C₅₇H₂₂ClF₁₉N₆O₃ [M+H]⁺ 1234,1139, trouvé 1235,11946.

**5-[4-Méthoxy-(1(2-bromo-4-fluorophényl)-3-éthoxycarbonylpyrazol)tétrafluorophényl]-
10,15,20, tris (pentafluorophényl)porphyrine 59c.**



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,93 (2H, s, 2NH), 1,47 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 4,51 (q, 2H, CH₂CH₃, J = 7,1 Hz), 5,94 (s, 2H, CH₂O), 7,36 (s, 1H, CH-pyrazole), 7,67 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H-Ar), 8,40 (dd, 1H, J = 8,4 Hz et 2,3 Hz, H-Ar), 8,47 (d, 1H, J = 2,4 Hz, H-Ar), 8,90 (m, 8H, H- β).

RMN¹⁹F (282,38 MHz, CDCl₃-d): -160,10 à -160,03 (m, 6F, F ortho), -161,90 à -161,81 (m, 2F ortho), -174,89 à -174,75 (t, 3F para), -179,64 à -179,59 (m, 2F méta), -184,89 à -184,83 (m, 6F méta).

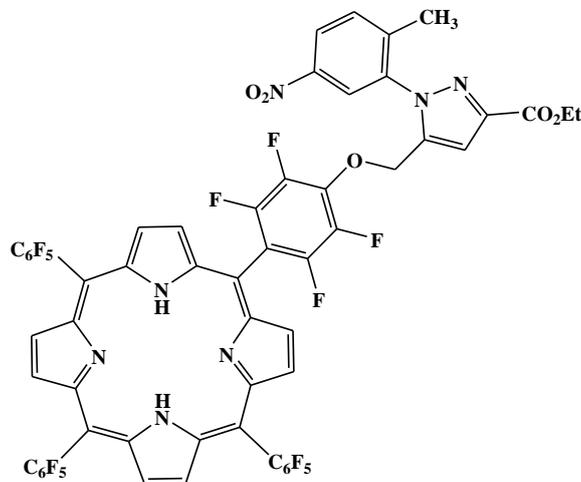
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,2, 61,5, 62,7, 104,3, 111,1, 115,3, 116,0, 123,0, 130,0, 132,6, 136,0, 138,2, 139,6, 144,9, 161,8.

UV-vis (CHCl₃): λ_{\max} (log ϵ) = 413 (5.49), 507 (4.33), 583 (3.84) nm

MS (MALDI): m/z = 1299,0 [M+H]⁺.

HRMS-ESI(+) m/z calculé C₅₇H₂₂BrF₂₀N₆O₃ [M+H]⁺ 1297.05390, trouvé 1297,05962.

5-[4-Méthoxy-(1-(2-méthyl-5-nitro)-3-éthoxycarbonylpyrazol)tétrafluoro]phényl-10,15,20,
tris(pentafluorophénylporphyrine) 59d



RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): -2,91 (2H, s, 2NH), 1,48 (3H, t, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 2,48 (3H, s, CH₃ Ar), 4,56 (2H, q, J = 7,1 Hz, CH₂CH₃), 5,94 (2H, s, OCH₂), 7,36 (1H, s, H-pyrazole), 7,66 (1H, d, J = 8,5 Hz, H-Ar), 8,40 (1H, dd, J = 8,5 Hz et 2,3 Hz, H-Ar), 8,47 (1H, d, J = 2,3 Hz, H-Ar), 8,90 (8H, m, H-β).

RMN¹⁹F (282.38 MHz, CDCl₃-d): -160,10 à -160,03 (m, 6F, F ortho), -161,90 à -161,81 (m, 2F ortho), -174,89 à 174,75 (t, 3F para), -179,64 à -179,59 (m, 2F méta), -184,89 à -184,83 (m, 6F meta).

UV-vis (CHCl₃): λ_{max} (log ε), 413 (5.25), 506 (4.09), 582 (3.59) nm

HRMS-ESI(+) m/z calculé C₅₈H₂₅F₁₉N₇O₅ [M+H]⁺ 1260,15355, trouvé 1260.15955.

Conclusion générale

Dans le cadre de notre travail de thèse, de nouveaux dérivés de la pyridazinone et de la porphyrine à caractère pharmacologique potentielle ont été préparés et fonctionnalisés par divers méthodes, *via* des réactions de condensation, d'alkylation, et de réaction de cycloaddition dipolaire 1,3.

Dans la première partie du chapitre I, nous avons décrit un rappel bibliographique détaillé sur les méthodes de synthèse de la pyridazinone, cette dernière présente un intérêt sur le plan réactivité et permettant d'accéder à la synthèse des composés pyridaziniques substitués doués des propriétés pharmacologiques et biologiques très diverses et intéressantes. La deuxième partie consacrée à nos travaux expérimentaux, dans un premier temps nous avons développé une stratégie de synthèse mettant en oeuvre la réaction de condensation l'aniline substituée en différentes positions avec la 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone pour accéder à une nouvelle série des acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4 dihydropyridazine-3-carboxyliques. L'étude de la réactivité d'acide 1-(4-fluorophényl)-6-méthyl-4-oxo-1,4-dihydro pyridazine-3-carboxylique vis-à-vis des agents binucléophiles tels que l'hydrazine et la phénylhydrazine nous a permis de synthétiser des pyrazolo[4,3-c]pyridazinones avec de bon rendements. Une autre stratégie de synthèse de nouvelles structures dérivés de pyridazin-3-(2 H)-one mettant en oeuvre la condensation de trois réactifs: l'acide lévunilique, les arylaldéhydes et l'hydrazine hydraté a été examiné. L'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis de différent agents alkylants, nous a permis de localiser le site réactif et à aboutir la synthèse des *N*-alkyl-pyridazin-3-ones avec de bons rendements. Les tests pharmacologiques réalisés *in vitro* sur quelques molécules de l'hydrazonopyran-2,4-dione et de l'acide 4-pyridazinone montrent que certains composés présentent des activités cytotoxiques importantes vis-à-vis des cellules tumorales P815. L'acide 6-méthyl-1-(4-nitrophényl)-4-oxo-1,4-dihydropyridazine-3-carboxylique est le plus actif dans cette série des pyridazinones ($IC_{50} = 0,40 \mu\text{g/ml}$). Ce composé peut être utilisé comme un élément clé pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

Dans le deuxième chapitre, nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines avec le 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one. La présence de plusieurs sites dipolarophiles potentiels de la pyridazinone tels que : la double liaison C=N, la double liaison C=C et la double liaison C=O, nous a permis d'envisager la péri- et la régiosélectivité de la réaction. L'addition du dipôle s'effectuée préférentiellement sur la double liaison C=N. La réaction est péri-sélective. Le sens d'addition du dipôle est unique, un

seul cycloadduit de type triazolopyridazinone a été identifié avec un rendement moyen. La réaction est régiosélective.

Dans le dernier chapitre, intitulé «Cycloaddition dipolaire 1,3 des porphyrines : Synthèse de nouvelles pyrazolin- et pyrazoloporphyrines en vue de leur application en photothérapie dynamique», nous avons présenté les travaux de la littérature décrivant les problématiques du cancer, la chimie des porphyrines et ses applications en photothérapie dynamique pour le traitement du cancer ainsi que l'étude bibliographique sur les réactions de cycloaddition dipolaire 1,3 des porphyrines. Ensuite, nous avons étudié la réactivité des 2-vinyl-5,10,15,20-tetraphenylporphyrin (2-vinyl-TPP) métallées en particulier celui complexé par Zn(II) et le méso-tétrakis(pentafluorophénylporphyrine)propargylique vis-à-vis des N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines. Ces derniers réagissent préférentiellement sur les sites dipolarophiles : C=C, C≡C et conduit à la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type porphyrine-pyrazolines et porphyrine-pyrazoles. Ces derniers sont obtenus avec de bons rendements (50-96%) via la conversion des pyrazolines par oxydation avec le DDQ. Aucun adduit de type chlorins, issu de l'addition de dipôle sur la double liaison C=C pyrrolique n'a été identifié.

L'hydrolyse acide des porphyrine-pyrazolines a permis de préparer en une seule étape des porphyrine-pyrazoles fonctionnalisés par une fonction acide avec des rendements supérieurs à 65%. Les porphyrines synthétisées ont été caractérisées par divers méthodes spectroscopiques: UV-visible, RMN¹H, RMN¹³C, RMN¹⁹F, spectrométrie de masse MALDI et ESI.

L'analyse photophysique des composés synthétisés montre que dans la série de cycloaddition de vinylporphyrine Zn(II), les cycloadduits de type les porphyrine-pyrazolines présentent des rendements quantiques d'oxygène singlet importants. Les porphyrine-pyrazoles issus de l'addition du nitrilimine sur le (F19TPP) monopropargylé montrent que le rendement quantique d'oxygène singlet dépasse 70% (Celle du produit de référence (TPP dans DMF Φ_{Δ} =0.65). Par conséquent, les composés qui présentent haut rendement quantique de l'oxygène singlet confèrent à ces dérivés des propriétés intéressantes pour leurs utilisation potentielle comme photosensibilisants dans la photothérapie dynamique du cancer.

Des tests préliminaires pharmacologiques, réalisés *in vitro* sans excitation par la lumière réalisés sur quelques molécules porphyrine-substitué en position méso par le motif pyrazole, montrent des résultats significatifs contre la lignée cellulaire P815.

Résumé

Synthèse et Evaluation des Propriétés Photophysiques et Pharmacologiques de Nouveaux Systèmes Polyaza-hétérocycliques Pyridaziniques et Porphyriniques

Les composés hétérocycliques représentent la majorité des molécules utilisées dans l'industrie pharmaceutique et font l'objet d'une recherche très active dans le monde. Leur rôle dans les processus biologiques est de première importance et ils sont aussi les structures de base d'une grande variété des médicaments. Les pyridazinones et les porphyrines font partie des dérivés hétérocycles les plus utilisés, du fait de leurs activités biologiques diverses. Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules hétérocycliques à caractère pharmacologique potentielles.

Dans la première partie de ce travail, nous avons développé la synthèse d'une nouvelle série des acides 1-aryl-6-méthyl-4-oxo-1,4 dihydropyridazine-3-carboxylique à partir de la réaction de condensation des dérivés de l'aniline substituée en différentes positions avec le 4-hydroxy-6-méthyl-2-pyrone. Ensuite, nous avons préparé de nouveaux dérivés de la 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one pyridazin-3(2H)-one mettant en oeuvre la réaction de condensation multicomposés de trois réactifs : l'acide levunilique, les arylaldéhydes et l'hydrazine hydraté. L'étude de la réactivité de 6-styryl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one vis-à-vis de différents agents alkylants et des nitrilimines nous a permis de localiser le site réactif conduisant à la synthèse des *N*-alkyl-pyridazin-3-ones et des triazolopyridazinones avec de bons rendements. Les résultats pharmacologiques effectués sur la lignée cellulaire tumorale P815 montrent que certaines molécules possèdent des activités anticancéreuses significatives.

Dans la deuxième partie, nous avons développé avec une approche simple, la synthèse d'une nouvelle série de pyrazoline-porphyrines et pyrazolo-porphyrines par cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines avec les vinylporphyrines et son homologue propargylé. L'analyse photophysique des composés synthétisés montre que certains cycloadduits de type pyrazoline-porphyrines présentent des rendements quantiques d'oxygène singulet importants. Ces composés peuvent être utilisés en tant que photosensibilisateurs en photothérapie dynamique pour le traitement du cancer.

Mots clés : Pyridazinones, Triazolopyridazinones, pyrazoline-porphyrines, pyrazolo-porphyrines, *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines, Propriétés photophysiques, Activité anticancéreuse.