



UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal



Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques
Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)

THÈSE

Présentée par

Jamila ZAITER

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Organique et Analytique

***Élaboration et étude des activités biologiques et
 pharmacologiques de nouveaux hétérocycles spiropyrazoliques et
 pyrazolophosphonates***

Soutenue publiquement le **15 Décembre 2018** devant la commission d'examen :

E.M. RAKIB	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Beni Mellal, Maroc	Président
M. TAOURIRTE	Professeur, Université Cadi Ayyad, F.S.T. Marrakech, Maroc	Rapporteur
M. D. PUJOL	Professeur, Université de Barcelone, Faculté de Pharmacie, Barcelone, Espagne	Rapporteur
M. AKSSIRA	Professeur, Université Hassan II de Casablanca, F.S.T. Mohammedia, Maroc	Examineur
M. A. F. FAUSTINO	Professeur, Université d'Aveiro, Département de chimie d'Aveiro, Portugal	Examineur
M. G. P. M. S. NEVES	Professeur, Université d'Aveiro, Département de chimie d'Aveiro, Portugal	Examineur
M. KHOULI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Co-Directeur de thèse
A. HAFID	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe de Chimie Organique et Organométallique Appliquées (ECOAA) du Laboratoire de Chimie Organique et analytique (LCOA), Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane de Béni-Mellal.

Je tiens à adresser mes remerciements aux Professeurs Mostafa KHOULI et Abderrafia HAFID pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe de recherche ECOAA.

L'occasion m'est offerte de remercier profondément mon directeur de thèse, le Professeur Abderrafia HAFID, à qui je reste redevable pour m'avoir supportée et soutenue sans relâche tout le long de cette thèse. Je tiens à lui témoigner toute ma gratitude pour tous les conseils, orientations et encouragements qu'il n'a cessés de me prodiguer tout au long de la réalisation de ce travail. Merci pour toutes les marques de sympathie sans cesse renouvelées et tout son investissement.

Je tiens à remercier avec beaucoup d'estime mon co-directeur de thèse, le Professeur Mostafa KHOULI, qui a suivi avec grande rigueur l'évolution de cette thèse et pour l'intérêt constant qu'il a porté à mes travaux et pour sa passion pour la Synthèse Organique qu'il m'a fait partager durant ces années. Il m'est difficile de lui exprimer toute ma reconnaissance pour son permanent soutien, son regard critique et ses conseils pertinents qui m'ont permis de progresser de façon significative. Qu'il trouve ici l'expression de mon plus grand respect.

Mes vifs remerciements s'adressent aux Professeurs Maria Amparo F. FAUSTINO et Maria Graça P.M.S. NEVES, de l'Université Aveiro, Aveiro, Portugal, sans elles ce travail n'aurait pas abouti. Je leur exprime toute ma reconnaissance pour leur collaboration et permanent soutien. Je remercie également Madame Claudia NEVES pour les efforts de purification et caractérisation des composés **5** et **6** ainsi que le Professeur Artur SILVA pour son aide pour l'identification structurale des phosphonates.

Je voudrais également adresser mes très sincères remerciements au Professeur Luciano SASO de l'Université Sapienza de Rome (Italie), Département de Physiologie et Pharmacologie "Vittorio Erspamer", pour les tests biologiques concernant les maladies neurodégénératives.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Professeur Maria Dolors PUJOL de la Faculté de Pharmacie de Barcelone - Université de Barcelone (Espagne), et au Professeur Moha TAOURIRTE de la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech - Université Cadi Ayyad, qui en tant que rapporteurs ont accepté d'évaluer ce travail. Je les remercie particulièrement pour leurs remarques et conseils.

Qu'il me soit permis de remercier Monsieur El Mostapha RAKIB, Professeur et Vice-Président Chargé de la Recherche Scientifique à l'Université Sultan Moulay Slimane, de m'avoir fait l'honneur en acceptant de présider la commission d'examen de cette thèse.

J'adresse ma plus vive reconnaissance également à Monsieur Mohamed AKSSIRA, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia, Madame Maria Graça P.M.S. NEVES, Professeur à l'Université Aveiro (Portugal) et Madame Maria Amparo F.

FAUSTINO, Professeur à l'Université Aveiro (Portugal) qui ont bien accepté d'être membres du jury de ma thèse.

Merci aussi à tous mes collègues du laboratoire Soufiane AKHRAMEZ, Hicham FADILI, Mustapha DIB, Amina AMLIL, Saliha HAMRI, Jamila BOUALI, Hanane ACHIBAT, Hasna YASSINE et Asmae OUMESSAOUD. Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien.

Enfin j'exprime ma plus profonde gratitude à ma très chère famille, mes sœurs et mes frères qui m'ont accordée le soutien moral, sans qui je n'aurais pu réaliser ce travail dans de bonnes conditions. Je leur dédie ce travail.

Afin de n'oublier personne, je remercie tous ceux que j'ai pu croisés au cours de ces années de thèse pour leurs sourires, leurs encouragements et leurs bienveillances.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	8
INTRODUCTION GENERALE	9
Partie I :	12
Synthèse des nouveaux composés spirohétérocycliques	12
Chapitre I :	13
Rappels bibliographiques sur les spirocycles	13
I. Introduction	14
II. Intérêt biologique du noyau spirocycles	14
III. Principales méthodes de synthèse des spirohétérocycles	22
III.1. Méthodes d'alkylations.....	22
III.2. Synthèse catalysée par les métaux de transition	23
III.3. Expansion de cycle	25
III.4. Méthode de Réarrangement	25
III.5. Cycloadditions	26
III.6. Le clivage des systèmes pontés	28
IV. Conclusion	29
V. Etude bibliographique sur la réactivité de l' amino-pyrazole	30
V.1. Condensation de l' amino-pyrazolone sur des composés hétérocycliques	31
V.2. Synthèse des spirohétérocycles à partir de l' aminopyrazolone.....	33
V.3. Condensation de l' amino-pyrazole sur des aldéhydes	36
V.4. Principales méthodes d'accès au noyau spiro-pyrazole	41
VI. Conclusion	45
Chapitre II :	46
Synthèse de nouveaux composés spiropyrazoles	46
I. Réaction de Knoevenagel	47
II. Elaboration de nouvelles structures spiropyrazoliques	49
II.1. Optimisation de la condensation du 1-phényl-3-aminopyrazol-5-one avec le benzaldéhyde selon la condensation de Knoevenagel.....	50
II.2. Caractérisation des composés 5 et 6	51
II.2.1. Etude par RMN (¹ H, ¹³ C, HSQC, HMBC) du composé spiro 5.....	51
II.2.2. Etude par RMN (¹ H, ¹³ C, COSY, HSQC, HMBC et NOESY) du composé spiro 6	54
II.2.3. Etude par Rayon X du composé 5.....	59
II.2.4. Etude par Spectroscopie de Masse : masse électro spray (ESI-MS) des composés 5 et 6	60
II.2.5. Mécanisme proposé	62
III. Développement et application de la réaction tandem Knoevenagel Michael a la synthèse de nouvelles entités à structure spiro-pyrazolones	63
IV. Synthèse de nouveaux spiro pyrazoles avec deux aldéhydes différents	70
V. Conclusion	74
Chapitre III :	75

<i>Evaluation de l'activité bactérienne des dérivés spiro-pyrazoliques</i>	75
I. L'activité antibactérienne	76
I.1. Matériels.....	76
a. Souches bactériennes.....	76
b. Milieux de culture.....	77
c. Les composés spiropyrazoliques.....	77
I.2. Méthodes.....	78
a. Méthode en milieu solide.....	78
b. Méthode des disques en milieu solide de Kirby-Bauer.....	78
II. Évaluation de l'activité antibactérienne des composés spiropyrazoliques	79
II.1. Mode opératoire.....	79
II.2. Résultats.....	80
II.3. Conclusion.....	81
II. Quorum sensing	81
III.1. Origine et découverte.....	81
III.2. Définition.....	81
III.3. Notion d'auto-inducteurs.....	82
III.4. Mécanisme du QS chez les bactéries.....	82
III.5. Inhibition du Quorum Sensing.....	84
III.6. Bactéries biosenseurs.....	85
IV. Évaluation de l'Inhibition du Quorum Sensing (QSI) antibactérienne des spirocycles	85
IV.1. Matériels et méthodes.....	85
a. Chromobacterium violaceum.....	85
b. Luria Bertani broth (LB) ou LB agar.....	86
IV.2. Techniques de mise en évidence de l'activité QS des biosenseurs.....	86
IV.3. Résultats :.....	86
a. Mode opératoire.....	86
b. Résultats.....	87
Chapitre IV :	88
<i>Evaluation et application des études in silico des dérivés spiropyrazoliques.</i>	88
I. Introduction	89
II. Règles de Lipinski	89
II.1. Toxicité.....	90
II.2. Coefficient de partage : cLogP.....	90
II.3. Poids moléculaire et solubilité : logS.....	90
II.4. Surface topologique polaire (TPSA).....	91
II.5. La ressemblance médicamenteuse : drug likeness.....	91
III. Logiciel Molinspiration	92
IV. Résultats et discussion	92
a. Molinspiration chiminformatique.....	93
b. Score de bioactivité des composés spiro.....	98
V. Conclusion	103
Chapitre V :	104
<i>Etudes pharmacologiques</i>	104

I. Introduction	105
II. Mécanismes de neurodégénérescence	106
II.1. Agrégation toxique de protéines	106
II.2. Augmentation de l'apoptose	108
II.3. Le stress oxydant	109
II.4. Dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome	111
III. Étude biologique	112
III.1. Essais Colorimétriques MTT	113
III.2. Culture cellulaire et traitements	113
III.3. Évaluation de la viabilité cellulaire par dosage MTT	115
III.4. Étude de viabilité cellulaire	116
IV. Conclusion	121
Partie II :	122
Synthèse de nouveaux composés pyrazolophosphonates	122
Chapitre I :	123
Rappels bibliographiques sur les organophosphorés	123
I. Introduction	124
II. Intérêt biologique des organophosphorés	125
III. Les phosphonates	128
III.1. Les phosphonates naturels	128
III.2. Synthèses des phosphonates	129
III.2.1. Le procédé Michaelis-Arbuzov.....	129
III.2.1. Le procédé Kabachnik-Fields	130
III.2.2. Réaction de Pudovik	132
III.2.3. Réaction de Mitsunobu	132
IV. Synthèse des phosphonates contenant des dérivés pyrazoliques	133
V. Conclusion	137
Chapitre II :	138
Synthèse de nouveaux pyrazolophosphonates à partir de 1-phenyl-3-amino-5-pyrazolone	138
I. Introduction	139
II. Rappel bibliographique sur les organocatalyseurs	139
II.1. Différents modes d'activation existent en organocatalyse	141
II.1.1 Aminocatalyse.....	141
II.1.2 Activation de type énamine.....	142
III. Optimisation de la condensation du 1-phenyl-3-aminopyrazole -5-one avec le benzaldéhyde et triéthylphosphite selon la réaction de Kabachnik-Fields.	144
IV. Étude spectroscopique:	147
VI.1. Caractérisation de α-hydroxy-pyrazolo-phosphonates	147
a. Spectroscopie de RMN du proton:	147
b. Spectroscopie de RMN du carbone 13.	148
VI.2. Caractérisation de α-hydroxy, α-amino pyrazolo-phosphonates 35	149

a.	Spectroscopie de RMN du proton.....	149
b.	Spectroscopie de RMN du ¹³ C.....	150
c.	Spectrométrie de masse	153
V.	Mécanisme proposé.....	153
VI.	Évaluation de l'activité antibactérienne des composés pyrazolophosphonates.....	155
VI.1.	Mode opératoire.....	155
VI.2.	Résultats	155
VII.	Elaboration de nouveaux pyrazolophosphonates selon la réaction de Kabachnik-Field.....	157
	<i>CONCLUSION GÉNÉRALE.....</i>	<i>165</i>
	<i>PARTIE EXPERIMENTALE.....</i>	<i>166</i>
	<i>LISTE DES PRODUITS SYNTHETISES</i>	<i>166</i>

LISTE DES ABBREVIATIONS

ACC ase : Acétyl Coenzyme A carboxylase	LB : Luria Bertani broth
AHL : Acyl Homosérine Lactones	LUMO : Lowest Unoccupied Molecular Orbital
APP : Amyloid Precursor Protein	MP : Maladie de Parkinson
AP-SiO₂ : gel de silice 3-Aminopropyl	MPP+ : Ion 1-Méthyl-4-Phenylpyridinium
APTS : Acide para-toluène sulfonique.	MTT : Bromure de 3-(4,5-diméthyl-Thiazol-2-yl)-2,5-diphényl Tetrazolium
Aβ : peptides β-amyloïdes	NHC : carbène N-hétérocyclique
BACE1 : β-site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme1	NITD609 : (1'R,3'S)-5,7'-dichloro-6'-fluoro-3'-méthyl-2',3',4',9'-tetrahydrospiro[indoline-3,1'-pyridol[3,4-b]indol]-2-one
Cat : Catalyseur	NOESY : nuclear Overhauser effect spectroscopy;
CMI : Concentration minimale inhibitrice	Pd(dba)₂ : Palladiumbis(dibenzylidèneacétone)
COSY : corrélation spectroscopie	<i>P. aeruginosa</i> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C. violaceum : Chromobacterium violaceum	PF : Point de fusion
DCM : Dichlorométhane	PF-04862853 : 7-azaspiro [3.5] nonane urée
DMAP : 4-Diméthylaminopyridine	PFATP4 : Plasmodium falciparum l'ATPase4 transporteur de cations de type P.
DMF : Le N, N-Diméthylformamide	QQ : quorum quenching
DMSO : Diméthylsulfoxyde	QS : quorum sensing
<i>E. coli</i> : <i>Escherichia coli</i>	QSI : l'inhibition du quorum sensing
EDDA : diacétate d'éthylènediammonium	Rdt : Rendement
EORS : Espèces Oxygénées Réactives	ROS : Reactive Oxygen Species ou Espèces Réactives de L'oxygène
éq : Equivalent	SAA : Stetter-Aldol-Aldol
ESI-MS : ElectroSpray Ionization Masse Spectrometry	SH-SY5Y : Cellules de Neuroblastome Humain
FAAH : Fatty Acid Amide Hydrolase	<i>S.aureus</i> : <i>Staphylococcus aureus</i>
HMPA : hexaméthylphosphoric acid triamide (hexaméthylphosphoramide)	SOMO : orbitale moléculaire occupée séparément
HMBC : heteronuclear multiple bond correlation	TA : Température ambiante
HSQC : heteronuclear single quantum coherence	TBAB : bromure de tétrabutylammonium
HOMO : Highest Occupied Molecular Orbital	TMM : triméthylène-méthane
5HT₇ : récepteurs sérotoninergiques	TTMSS : tris-(Triméthylsilyl) silane
IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%	TBATB : Tétrabutylammonium Tri-Bromide
KAES79 : (1'R,3'S)-5-chloro-6'-fluoro-3'-méthyl-2',3',4',9' tetrahydrospiro[indoline-3,1'-pyridol[3,4-b]indol]-2-one,	TSA : Gélose Tryptic-Soy-Agar
KHMDS : bis (triméthylsilyl) amidure de potassium	TSB : Bouillon nutritif tryptones-soja
	<i>V. fischeri</i> : <i>Vibrio fischeri</i>

INTRODUCTION GENERALE

Les hétérocycles représentent une classe importante dans la chimie organique. Le caractère remarquable de ces motifs se retrouve dans leur structure qui peut réunir à la fois des composés cycliques saturés, partiellement saturés ou aromatiques ainsi que des groupements fonctionnels liés aux hétéroatomes. Ces motifs cycliques se retrouvent dans de nombreuses familles de produits naturels les plus divers (d'origine animale ou végétale) ainsi que dans de nombreuses molécules biologiquement actives.

L'obtention de structures hétérocycliques diverses et le développement de nouvelles méthodologies de synthèse sélectives, efficaces et économiques sont devenus des enjeux importants tant dans le milieu public que privé. Dans le domaine pharmaceutique, par exemple, la découverte de nouvelles cibles biologiques ou celle d'inhibiteurs plus puissants et plus spécifiques reposent de plus en plus sur l'accès à de grandes bibliothèques de molécules et/ou fragments. En chimie combinatoire, ces collections de petites molécules permettent d'augmenter la diversité moléculaire. Contrairement aux substances naturelles, les produits de synthèse peuvent amener rapidement à l'obtention de séries de petites charpentes moins complexes, hautement fonctionnalisées et biologiquement intéressantes.

Dans ce cadre les hétérocycles azotés sont la source privilégiée de nombreux sujets de travaux de recherche. Ainsi, différentes méthodes ont été mises au point pour accéder à ces composés hétérocycliques possédant des noyaux azotés, comme les spiro-pyrazoles, les pyrazolo-phosphonates. Ces derniers ont fait l'objet de travaux de recherches approfondies dans notre laboratoire.

L'essentiel de mon travail de thèse s'inscrit dans ce cadre, avec comme cible principale l'utilisation des réactions multi-composantes et des réactions de condensation, avec un objectif, à savoir l'élaboration des nouveaux squelettes poly-fonctionnalisés susceptibles de posséder des activités biologiques et/ou pharmacologiques.

Ce mémoire est structuré, en deux parties :

La première partie traitera la synthèse de nouveaux spirohétérocycles et se présentera en quatre chapitres.

Le **premier chapitre** est un rappel bibliographique sous forme d'une mise au point qui rapporte les différentes voies de synthèse des spiro-hétérocycles et leurs dérivés ainsi qu'un étallement sur leurs activités biologiques. Ce chapitre fera également l'objet de quelques rappels sur la réactivité de l'aminopyrazole, il s'agit de l'état de la littérature concernant leur

condensation sur des composés hétérocycliques ainsi que la synthèse des spirohétérocycles à partir de ce synthon.

Nous consacrerons le **deuxième chapitre** à la condensation de la 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one avec plusieurs aldéhydes aromatiques selon la réaction de Knoevenagel pour préparer des nouveaux systèmes spiro-hétérocycliques.

Le **troisième chapitre** fera l'objet de l'étude pharmacologique des nouveaux spiropyrazolones synthétisés et sera consacré à l'évaluation de l'activité antibactérienne de quelques dérivés de spiropyrazolones, préparées dans le deuxième chapitre.

Le **quatrième chapitre** présentera une étude *in silico* des nouveaux spiropyrazolones synthétisés, en utilisant le logiciel Molinspiration. Nous montrerons la similarité médicamenteuse de ses systèmes spiraniques et prédire leur score bio-activité.

La deuxième partie traitera la synthèse de nouveaux organophosphorées et se présentera en deux chapitres :

Le **premier chapitre** est un rappel bibliographique sous forme d'une mise au point qui rapporte les différentes voies de synthèse des organophosphorés et leurs dérivés ainsi qu'un étalement sur leurs activités biologiques.

Nous consacrerons le **deuxième chapitre** à la réaction multi composante de la 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one avec plusieurs aldéhydes et triéthylphosphite en présence d'un organocatalyseur L-proline selon la réaction de Kabachnik / Field pour préparer des nouveaux systèmes organophosphores. Ce chapitre fera également l'objet de quelques rappels bibliographique sur les organocatalyseurs et leurs voies d'activation. Ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne des composés pyrazolophosphonates **34** et **35**.

Partie I :

Synthèse des nouveaux composés spirohétérocycliques

Chapitre I :

Rappels bibliographiques sur les spirocycles

I. Introduction

Les composés spirocycliques ont fasciné les chimistes depuis plus d'un siècle. En 1900, Baeyer a créé le premier spiran qui a été décrit comme un hydrocarbure bicyclique, dont les deux cycles sont reliés par un seul carbone. En raison de la nature tétraédrique du carbone spiro, les plans annulaires sont presque perpendiculaires entre eux.¹

Les composés spirocycliques, sont des hétérocycles, spécifiquement présents dans un grand nombre de plantes et aussi dans le règne animal. Ainsi une large gamme d'alcaloïdes naturels, possédant un carbone-spiro a prouvé leur activité biologique dans la médecine, comme des antagonistes des récepteurs nicotiniques, anticancéreuses, antibiotiques et antimicrobiennes.²

En plus de leurs utilisations médicales, certains composés spiro ont d'autres applications dans les domaines agricoles et industriels. Ainsi ils sont utilisés comme agents anti-fongiques,³ pesticides,⁴ colorants laser⁵ et des dispositifs électroluminescents.⁶ Les composés spiro ont également été utilisés en tant que antioxydants.⁷

Dans ce chapitre nous allons donner un aperçu sur les intérêts biologiques des composés spirocycliques. Ensuite nous allons présenter également, un rappel bibliographique sur leurs méthodes de synthèse.

II. Intérêt biologique du noyau spirocycles

La configuration sp^3 du carbone quaternaire de jonction explique la géométrie tridimensionnelle particulière des structures spiraniques. Par conséquent, l'arrangement tétraédrique des liaisons autour du carbone spiro implique que les deux cycles se retrouvent dans des plans perpendiculaires.

¹ A. V. Baeyer. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1900**, 33, 3771.

² R. Pradhan, M. Patra, A. K. Behera, B. K. Mishra, R. K. Behera. *Tetrahedron*.2006, 62, 779.

³ H. Hejiao, G. Huijuan, L. Erwei, L. Xingzhong, Z. Yuguang, C. Yongsheng, *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 1672.

⁴ R. Wei, Y. Liu, Y. Liang. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, 29, 476.

⁵R. Pudzich, T. Fuhrmann-Lieker, T. Salbeck. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, 199, 83.

⁶M. M. Youssef, M. A. Amin. *Molecules.* **2010**, 15, 8827.

⁷ B. K. Sarma, D. Manna, M. G. Minoura, G. Mugesh. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 5364.

En raison de la structure tridimensionnelle, Les composés spiro présentent un large spectre d'activités biologiques importantes : antitumorale,⁸ antidiabétique,⁹ antibactérienne,¹⁰ antituberculeuse,¹¹ anti-inflammatoire¹² (Figure 1).

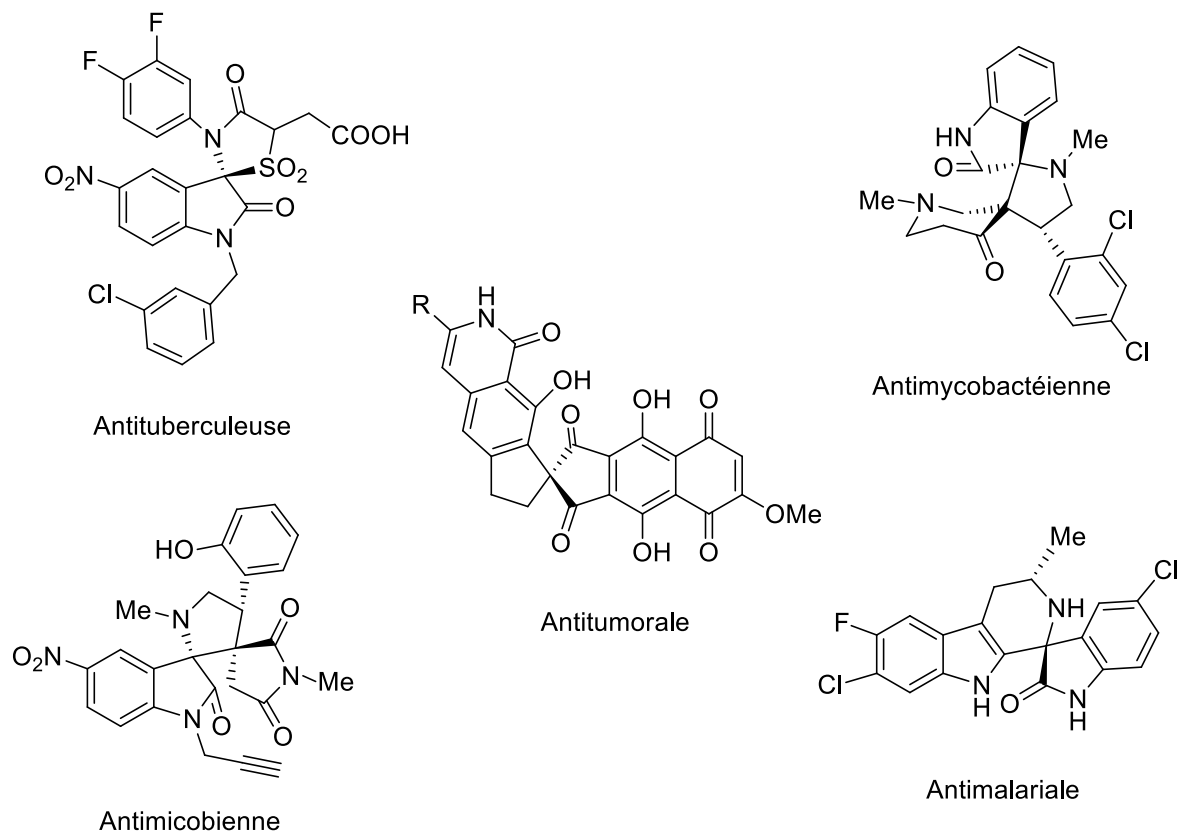


Figure 1

Les spiro tétrahydro- β -carbolines, ou spiroindolones (Figure 2),¹³ sont des médicaments puissants qui détruisent les stades sanguins de *Plasmodium falciparum* et de *Plasmodium vivax* à faible concentration nanomolaire. Les spiroindolones inhibent rapidement la synthèse des protéines chez *Plasmodium falciparum*, un effet qui est éliminé

⁸ a) A. S. Girgis. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 91. b) C. Young-Won, S. Angela, S. Bao-Ning, M. Qiuwen, C. Hee-Byung, R. Soedarsono, K. Leonardus, R. Agus, F. Norman, S. Steven, K. Douglas. *J. Nat. Prod.* **2008**, *7*, 390.

⁹ R. Murugan, S. Anbazhagan, S. S. Narayanan, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3272.

¹⁰ S. A. Van der Sar, J. W. Blunt, M. H. Munro. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2059.

¹¹ (a) P. Prasanna, K. Balamurugan, S. Perumal, P. Yogeewari, D. Sriram, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5653; (b) S.V. Karthikeyan, B.D. Bala, V.P.A. Raja, S. Perumal, P. Yogeewari, D. Sriram. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 350.

¹² K. M. Amin, M. M. Kamel, M. M. Anwar, M. Khedr, Y. M. Syam, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2117.

¹³ M. Rottmann, C. M. Namara, B. K. S. Yeung, M. C. S. Lee, B. Zou, B. Russell, P. Seitz, D. M. Plouffe, N. V. Dharia, J. Tan, S. B. Cohen, K. R. Spencer, G. E. González-Páez, S. B. Lakshminarayana, A. Goh, R. Suwanarusk, T. Jegla, E. K. Schmitt, H. P. Beck, R. Brun, F. Nosten, L. Renia, V. Dartois, T. H. Keller, D. A. Fidock, E. A. Winzeler, T. T. Diagana. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5155.

chez les parasites porteurs de mutations non synonymes dans le gène codant pour l'ATPase4 transporteur de cations de type P (PfATP4).

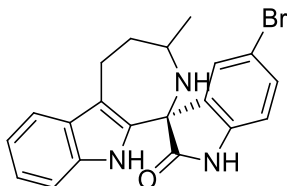
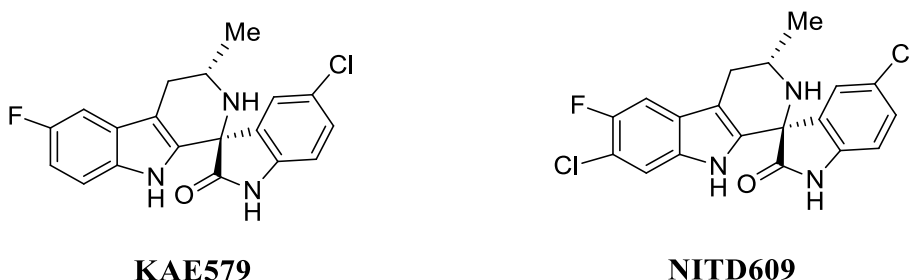


Figure 2. Exemple de dérivé spiroindolinones

Les composés KAE579 et NITD609,¹⁴ sont les plus actifs énantiomériquement purs (Figure 3), possèdent des IC₅₀ de 0,2 nM et 0,5 nM, et ils ont des caractéristiques pharmacocinétiques très prometteuses présentées par de faibles clairances hépatiques murine et humaine, pas de cytotoxicité, et potentiellement peu cardiotoxiques et génotoxiques.

Le spiroindolone NITD609 montre des propriétés pharmacocinétiques compatibles avec une administration orale une fois par jour et a une efficacité à dose unique dans un modèle de lutte contre le paludisme chez les rongeurs.



KAE579

NITD609

Figure 3. Composés spiro-indolinones les plus actifs développés par Novartis

Les molécules Spirotryprostatine A et Spirotryprostatine B (Figure 4),¹⁵ contiennent le squelette de spiro-pyrrolidinyl-oxindole. Les deux composés sont des alcaloïdes indoliques issus de la classe des produits naturels 2,5-dicétopipérazine présents dans le champignon d'*Aspergillus fumigatus*.

¹⁴ a) J. C. van Pelt-Koops, H. E. Pett, W. Graumans, M. van der Vegte-Bolmer, G. J. van Gemert, M. Rottmann, B. K. S. Yeung, T. T. Diagana, R. W. Sauerweina. *Antimicrob.Agents.Chemother.* **2012**, 56, 3544. b) N. J. Spillman, R. J.W. Allen, C. W. McNamara, B. K.S. Yeung, E. A. Winzeler, T. T. Diagana, K. Kirk. *Cell.Host.Microbe.* **2013**, 13, 227. c) E. L. Flannery, D. A. Fidock, E. A. Winzeler. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 7761.
¹⁵ C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada. *Tetrahedron.* **1996**, 52, 12651.

Les spirotryprostatines A et B (Figure 4), présentent une activité antitumorale très puissante et plusieurs autres alcaloïdes indoliques montrent une activité cytotoxique sur les lignées cellulaires de leucémie humaine. Ainsi sont révélés avoir des propriétés anti-mitotiques et, en tant que tels, sont devenus d'un grand intérêt pour les médicaments anticancéreux.¹⁶

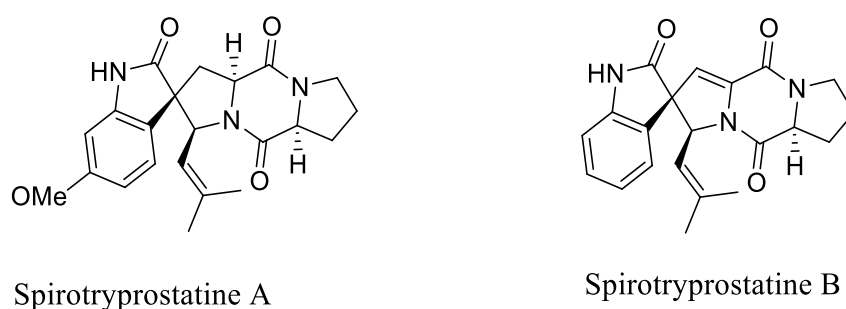


Figure 4

Bodo et al.¹⁷ ont isolé l'Horsfiline (Figure 5), un alcaloïde d'oxindole contenant le noyau spiro- [indole-pyrrolidone], trouvé dans la plante *Horsfieldia superba*, qui est utilisé dans la phytothérapie traditionnelle. Il a des effets analgésiques.

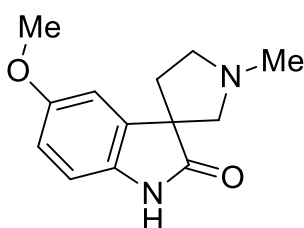


Figure 5. Horsfiline

La spironolactone et l'éplérénone¹⁸ (Figure 6), sont des antagonistes compétitifs de l'aldostérone, au niveau des récepteurs de l'hormone minérale corticoïde. En bloquant l'échange sodium-potassium au niveau du tube rénal, elles réduisent la réabsorption des ions sodium et l'excrétion des ions potassium. Elles sont à ce titre des antihypertenseurs et diurétiques commercialisées sous les noms d'Aldactone et Inspira respectivement.

¹⁶ a) C. Marti, E. M. Carreira, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 12, 2209. b) C. V. Galliford, K. A. Scheidt, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 8902.

¹⁷ A. Jossang, P. Jossang, H. A. Hadi, T. Sevenet, B. Bodo, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 6527.

¹⁸ A. S. Girgis, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 91.

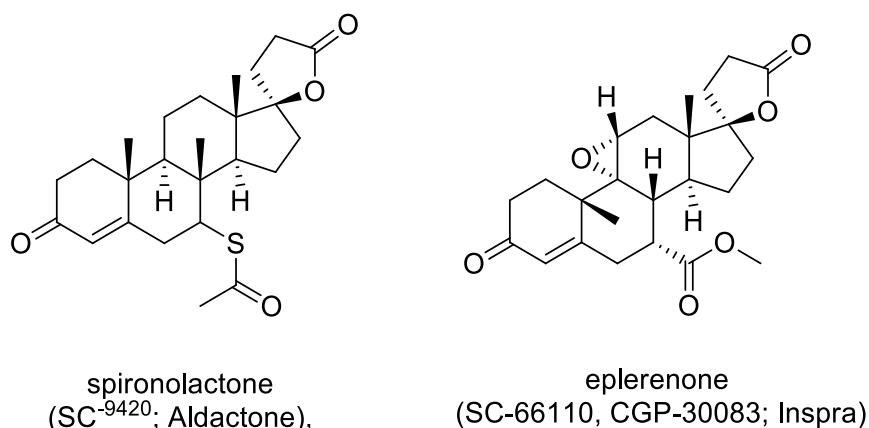


Figure 6

T. A. Dineen et *al.*¹⁹ ont identifié le composé spiro (AMG-8718) (Figure 7), comme inhibiteur de l'enzyme de clivage des protéines précurseurs amyloïdes (APP : Amyloid Precursor Protein) au site β -secretase (BACE1).

Ce dernier BACE1²⁰ est une protéase impliquée dans la formation des peptides β -amyloïdes ($A\beta$) dont les dépôts forment dans le cerveau les plaques amyloïdes caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.

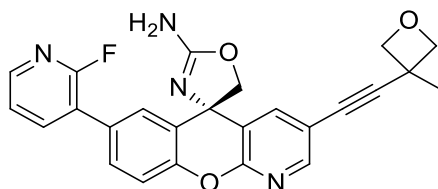


Figure 7. AMG-8718

M. J. Meyers et *al.*²¹ ont identifié deux nouvelles séries d'inhibiteurs spirocycliques de l'hydrolase des amides d'acides gras FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase) avec 7-azaspiro [3.5] nonane **A** et 1-oxa-8-azaspiro [4.5] décane **B** (Figure 8).

¹⁹ T. A. Dineen, K. Chen, A. C. Cheng, K. Derakhchan, O. Epstein, J. Esmay, D. Hickman, C. E. Kreiman, I. E. Marx, R. C. Wahl, P. H. Wen, M. M. Weiss, D. A. Whittington, S. Wood, R. T. Fremeau, R. D. White, V. F. Patel. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9811.

²⁰ X. Luo, R. Yan, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2010**, *3*, 618.

²¹ M. J. Meyers, S. A. Long, M. J. Pelc, J. L. Wang, S. J. Bowen, B. A. Schweitzer, M. V. Wilcox, J. McDonald, S. E. Smith, S. Foltin, J. Rumsey, Y. S. Yang, M. C. Walker, S. Kamtekar, D. Beidler, A. Thorarensen. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6545.

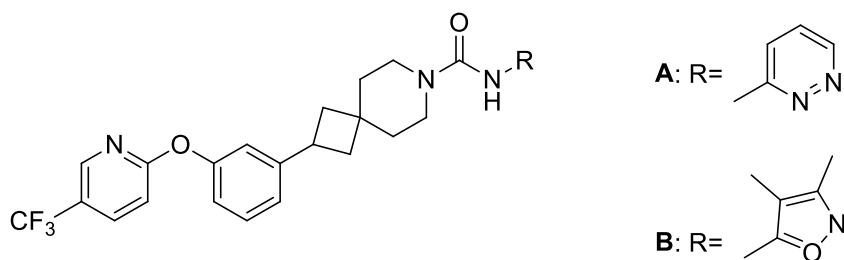


Figure 8.

Récemment ils ont découvert le spirocycle 7-azaspiro [3.5] nonane urée PF-04862853 (Figure 9), inhibiteur de l'acide aminé hydrolase (FAAH) efficace par voie orale pour traiter la douleur.

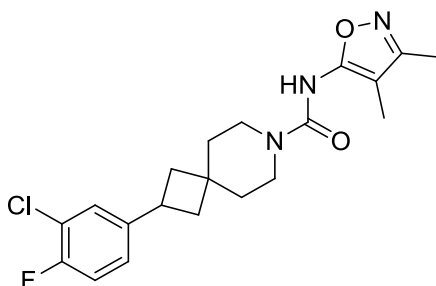


Figure 9. PF-04862853

D. A Griffith, et *al.*²² ont identifié la spiropipéridine (Figure 10) comme inhibiteur de l'acétyl Coenzyme A carboxylase (ACC ase), pour le traitement du diabète.

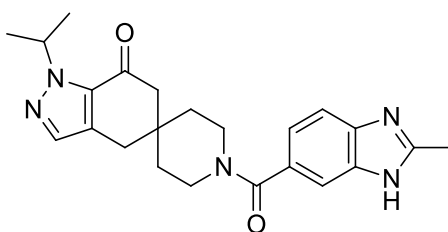


Figure 10. Spiropipéridine

La Calcimycin (figure 11) a des propriétés antibiotiques contre les bactéries Gram positives et les champignons (antibiotique et antifongique).²³

²²D. A. Griffith, D. W. Kung, W. P. Esler, P. A. Amor, S. W. Bagley, C. Beysen, S. Carvajal-Gonzalez, S. D. Doran, C. Limberakis, A. M. Mathiowetz, R. K. McPherson, D. A. Price, E. Ravussin, G. E. Sonnenberg, J. A. Southers, L. J. Sweet, S. M. Turner, F. F. Vajdos, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 10512.

²³G. R. Martinez, P. A. Grieco, E. Williams, K. Kanai, C. V. Srinivasan, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1436.

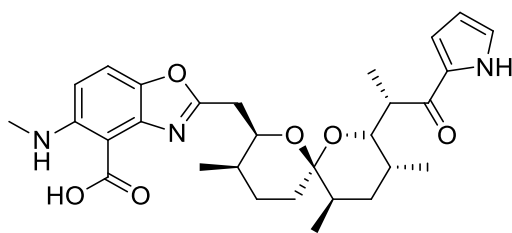


Figure 11. Calcimycin

S. Perumal et *al.*²⁴ ont cherché à développer de nouveaux médicaments contre la tuberculose via la synthèse de dispiro-pyrrolidines (Figure 12) à travers de nouvelles réactions multi composants qui offrent un accès rapide à des molécules de structures compliquées et poly-fonctionnalisées en une seule étape. Ce produit a montré une efficacité remarquable à faible concentration de 5.61 μM contre le H37Rv qui est un type de tuberculose.

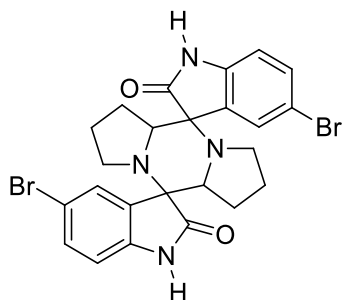


Figure 12 : Dérivé de spiro-[oxindole-pyrrolidine] à activité antituberculeuse

La Strychnofoline²⁵ (Figure 13) appartient à une classe de produits naturels isolés à partir des feuilles de *Strychnos usambarensis* qui affiche une activité potentielle anti-mélanomique et anti-cellule tumorale d'Ehrlich, observée par des essais effectués sur des rats.

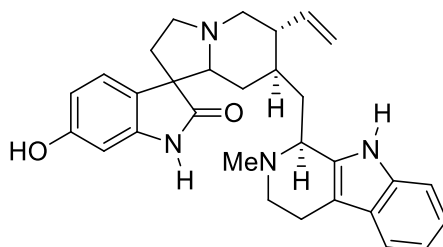


Figure 13. La Strychnofoline

²⁴S. Perumal, R. S. Kumar, S. M. Rajesh, P. Yogeewari, D. Banerjee, D. Sriram, *Eur.J. Med. Chem.* **2010**, 45, 411.

²⁵A. Lerchner, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14826.

La buspirone²⁶ a été antérieurement développée comme agent antipsychotique en série dopaminergique est actuellement considérée comme le premier composé anxiolytique non benzodiazépinique commercialisé sous le nom de « Buspar » (Figure 14).

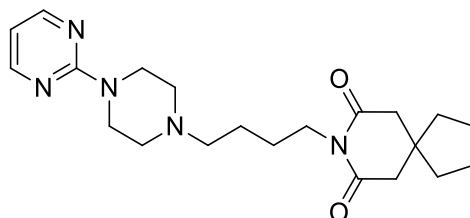


Figure 14. Structure de la buspirone " Buspar ".

Le composé MDL72832103²⁷ ($pIC_{50} = 9.1$) (Figure 15) possède une bonne affinité pour les récepteurs 5-HT_{1A}.

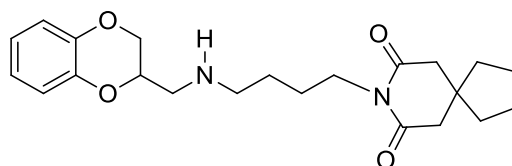


Figure 15. Représentation du MDL72832103

La molécule de spiroxatrine²⁸ (figure 16) ($pIC_{50} = 8.1$) reconnaît également le récepteur de la sérotonine 5-HT_{1A} (5-hydroxytryptamine) avec une affinité appréciable. Ce composé s'avère assez sélectif *vis-à-vis* des autres récepteurs.

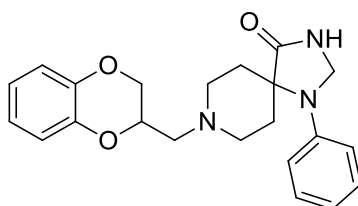


Figure 16. Spiroxatrine

Afin d'augmenter la sélectivité sur les sites 5-HT_{1A} par rapport aux autres récepteurs, T.Podona *et al.*²⁹ ont envisagé de rigidifier la structure de ces composés benzopyraniques. Pour obtenir cette rigidification, ils ont entrepris la synthèse de composés spiraniques (Figure 17).

²⁶ A. Orjales, L. Alonso-Cires, L. Labeaga, R. Corcostegui, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1273.

²⁷ I. Van Wijngaarden, M. T. M. Tulp, W. Soudijn, *Eur. J. Pharmacol.* **1990**, 188, 301.

²⁸ J. A. Terron, M. Ibarra, V. Ransanz, E. Hong, C. M. Villalón, *Arch. Inst. Cardiol. Mex.* **1993**, 63,289.

²⁹ T. Podona, B. G. Lemaitre, D. H. Caignard, G. Adam, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1779.

Avec ce composé spiro rigidifié, la sélectivité s'est accrue au détriment de l'affinité 5-HT_{1A}. Ce travail a permis d'élaborer une famille de nouveaux ligands sérotoninergiques très prometteuse.

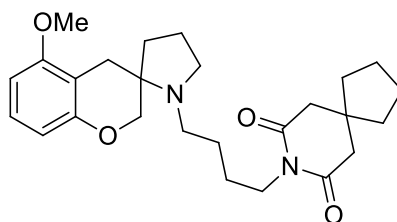


Figure 17. Structure du composé "spiro" rigidifié

III. Principales méthodes de synthèse des spirohétérocycles

Les dérivés spirocycliques ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux, d'où la grande diversité de méthodes de préparation décrites dans la littérature. En 1999, Sannigrahi a publié un article particulièrement intéressant traitant des approches générales stéréochimiquement contrôlées utilisées pour la synthèse des composés spirocycliques.³⁰ Ce n'est que dix ans après que Khota et ses collègues ont présenté un deuxième papier traitant les mêmes aspects synthétiques impliquant la formation de centres spirocycliques.³¹

Les méthodes les plus courantes pour la synthèse de spirocycliques impliquent des procédés d'alkylation, des processus basés sur les réarrangements, les cyclisations radicalaires et des réactions de cycloaddition.

III.1. Méthodes d'alkylations

Gravelet *al.*³² ont décrit une nouvelle spirocyclisation catalysée par un carbène *N*-hétérocyclique (NHC) selon la réaction domino SAA "Stetter-Aldol-Aldol", permettant la construction rapide de trois nouvelles liaisons carbone-carbone et un centre quaternaire à haute diastéréosélectivité, en utilisant l'*ortho*-phthalaldéhyde **1.1** comme substrat modèle avec des composés organiques énonés **1.2** et des quantités catalytiques de thiazolium **1.3**, donnant accès au spiro *bis*-indane **1.4** avec un bon rendement.

³⁰ M. Sannigrahi, *Tetrahedron*. **1999**, 55, 9007.

³¹ S. Kotha, A. C. Deb, D. Chandra, L. Lahiri, E. Manivannan. *Synthesis*. **2009**, 2, 165.

³² E. Sanchez-Larios, J. M. Holmes, C. L. Daschner, M. Gravel, *Org. Lett.* **2010**, 12, 5772.

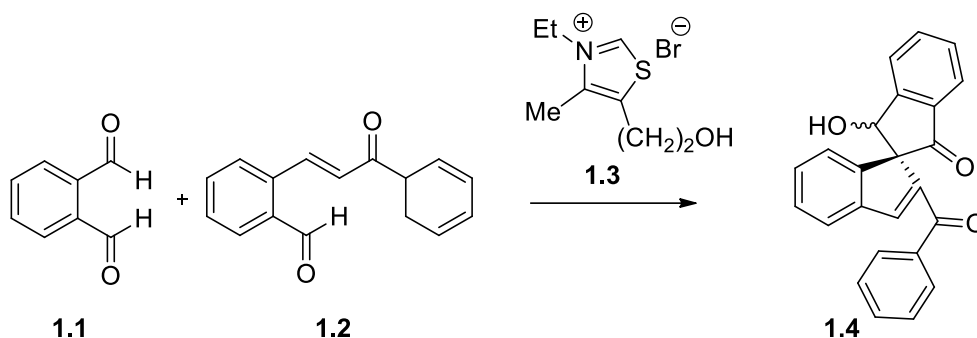


Schéma 1

Posner et *al.*³³ ont synthétisé la β-vétivone **2.4** en utilisant une réaction d'alkylation intramoléculaire. Dans un premier temps, la lactone **2.1** réagit avec un dérivé di-halogéné à la fois allylique et homoallylique tel que **2.2** selon un processus intermoléculaire puis dans un second temps de façon intramoléculaire pour donner la spiro lactone **2.4**. A noter que la réaction nécessite la formation transitoire de l'intermédiaire réactionnel mono-halogéné **2.3**. Pour achever la séquence, une série de transformations permet de convertir la spiro lactone **2.4** en β-vétivone **2.5**.

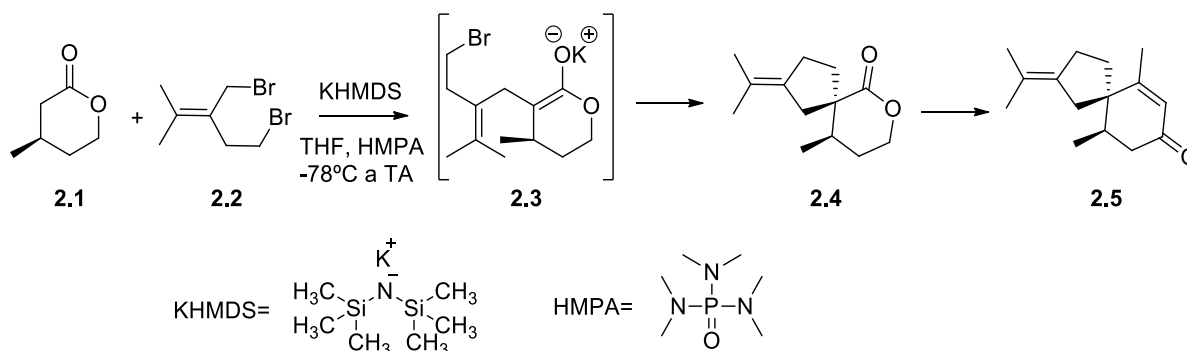


Schéma 2

III.2. Synthèse catalysée par les métaux de transition

Une large variété de composés spirocycliques ont été préparés *via* un processus de catalyse par les métaux de transition. Des exemples répertoriés dans la littérature concernent essentiellement des spirocarbocycles (Schéma 3).^{34,35}

³³ G. H. Posner, T. G. Hamill. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 6031.

³⁴ V. A. Dyakonov, O. A. Trapeznikova, A. Meijere, U. M. Dzhemilev. *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 5775.

³⁵ A. K. Franz, N. V. Hanhan, N. R. Ball-Jones. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 540.

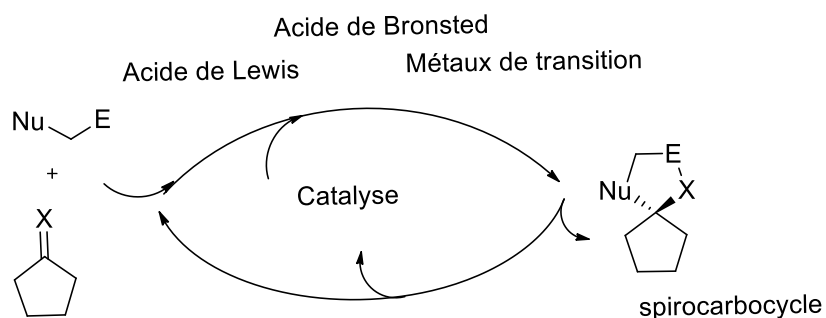


Schéma 3

Stephenson et *al.*³⁶ ont développé une réaction en cascade de cyclisation intramoléculaire (Schéma 4) en utilisant un intermédiaire de palladium à haute teneur qui génère une liaison carbone-carbone et carbone-oxygène en une seule transformation. Cette méthode offre un accès rapide aux tricycliques hautement fonctionnalisés, les cyclohexadiénones **4.2** spirocycliques. Avec de bons rendements et une forte tolérance *vis-à-vis* de l'oxygène et de l'eau dans des conditions douces.

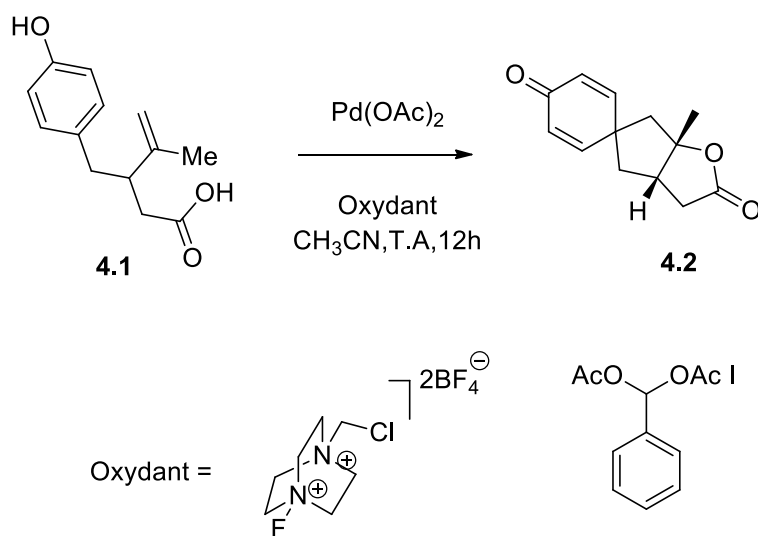
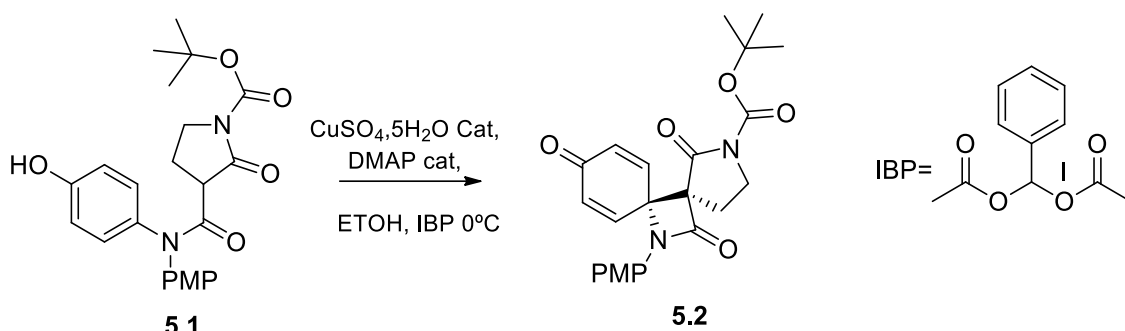


Schéma 4

Xu et *al.*³⁷ ont décrit la synthèse de β-céto-lactames spirocycliques par un processus de couplage oxydatif catalysé au cuivre (Schéma 5). En présence d'une quantité catalytique de sels de cuivre (II), l'amide **5.1** subit une réaction de couplage oxydatif afin de fournir le double noyau spirocyclique β-lactame **5.2**.

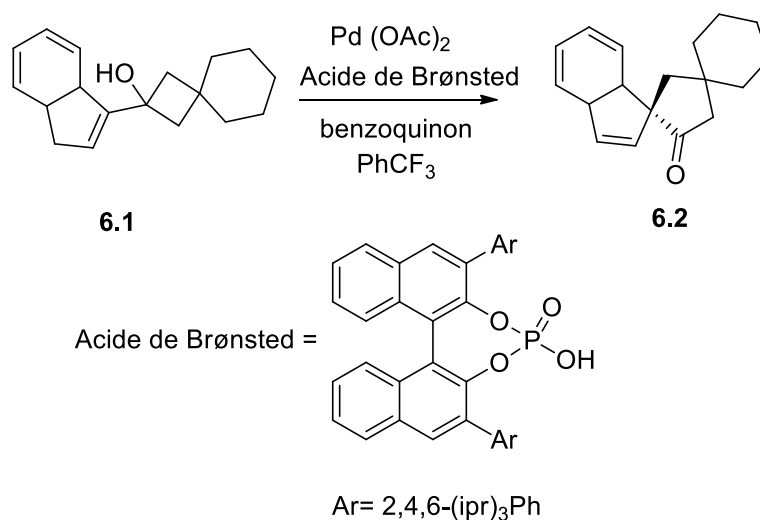
³⁶ B. S. Matsuura, A. G. Condie, R. C. Buff, G. J. Karahalios, C. R. J. Stephenson, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6320.

³⁷ Z. Xu, K. Huang, T. Liu, M. Xie, H. Zhang, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4923.



III.3. Expansion de cycle

Z. Chai et *al.*³⁸ ont développé une expansion de cycle migratoire catalysée par le Pd(II) / acide de Brønsted pour la synthèse de dérivés d'indène possédant un centre de carbone spirocyclique stéréogène (Schéma 6). Cette transformation peut se dérouler *via* une activation allylique C-H énantiosélective avec une expansion concomitante du cycle de semipinacol aux espèces π -allylpalladium naissantes. Des énantiosélectivités atteignant 98% ee étaient réalisables.



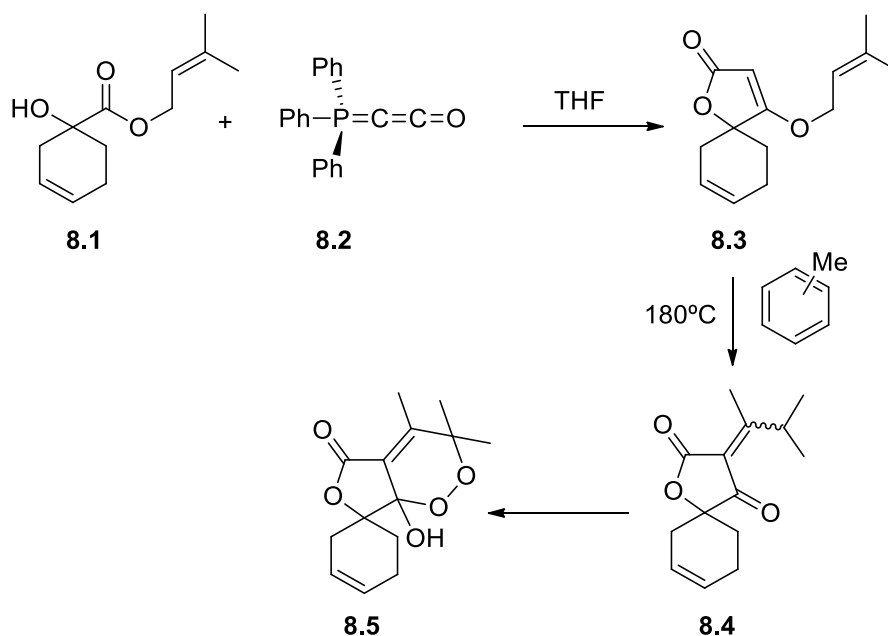
III.4. Méthode de Réarrangement

Jie Huang et *al.*³⁹ ont décrit une séquence de réaction qui implique la cyclisation de Nazarov suivie de deux migrations successives de Wagner-Meerwein, pour fournir des

³⁸ Z. Chai, T. J. Rainey. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 3615.

³⁹ J. Huang, D. Leboeuf, A. J. Frontier. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 6307.

permet d'obtenir le composé **8.3**. Le chauffage d'une solution de ce lactone dans du toluène à 180 °C conduit au composé **8.4**, ce qui subit une auto-oxydation pour donner l'endoperoxyde hémicétal **8.5** (Schéma 8).



B.M. Trost et *al.*⁴¹ ont rapporté une cycloaddition asymétrique [3+2] triméthylène-méthane (TMM) catalysée par le palladium Pd(dba)₂ entre le 3-acétoxy-2-triméthylsilylméthyl-1-propène **9.1** et aryltetralones **9.2** pour synthétiser le spiro exo-méthylène cyclopentane **9.3** avec un rendement élevé de 99% (Schéma 9).

⁴¹B. M. Trost, J. P. Stambuli, S. M. Silverman, U. Schworer. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13328.

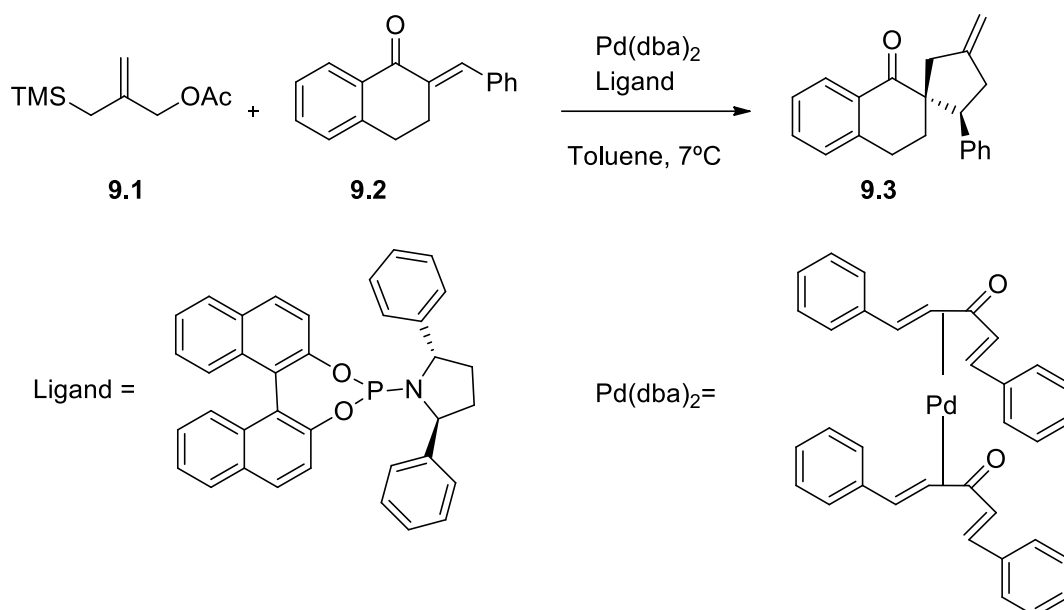


Schéma 9

Les cycloadditions de triméthylène méthane (TMM) [3 + 2] catalysées par des métaux de transition fournissent des voies directes vers des cyclopentanes fonctionnalisés. Cette réaction s'est révélée être un processus hautement chimio, régio et diastéréosélectif.

III.6. Le clivage des systèmes pontés

Tommaso Lanza et *al.*⁴² ont réalisé la synthèse de la spiroquinolone **10.3**, une étape intermédiaire clé dans la préparation des alcaloïdes indole. Le couplage de *N*-méthyl-2-iodo-6-méthoxyaniline avec du 2-(4-azidophényle) acétyle a donné de l'azidoacétamide **10.1** en haut Rendement (82%). Le traitement de **10.1** avec *tris*(triméthylsilyl)silane et triéthylborane (TTMSS / Et₃B) a conduit à l'hydrogénure de l'imine **10.2** (80%), qui a été hydrolysé pour conduire à la quinolone **10.3** avec un rendement global de 54% (schéma 10).

⁴² T. Lanza, R. Leardini, M. Minozzi, D. Nanni, P. Spagnolo, G. Zanardi. *Angew.Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9439.

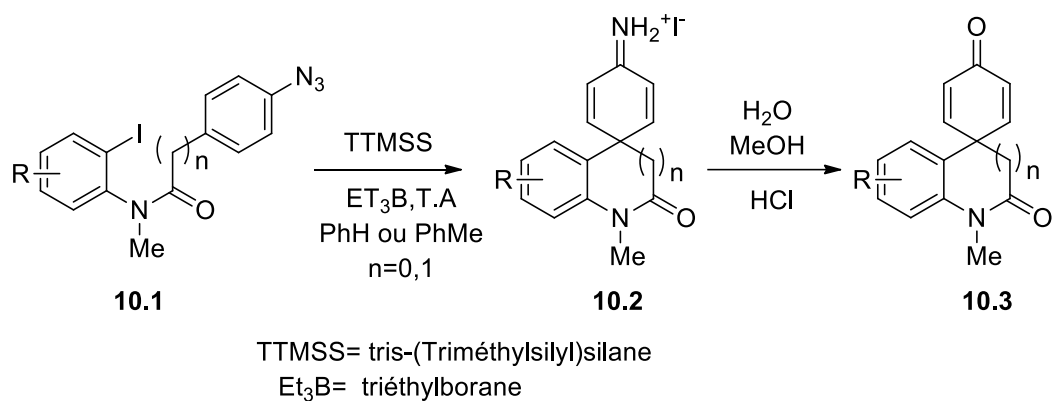


Schéma 10

La cyclisation des radicaux aryles à la position ipso de benzamides ou de 2-phénylacétamides substitués par *p*-azido entraîne une production efficace de radicaux spirocyclohexadiéniminyles par élimination rapide de l'azote moléculaire par des radicaux azidocyclohexadiényles transitoires

IV. Conclusion

La conception et la synthèse de spirohétérocycles reste un défi majeur de par la création du centre quaternaire, création elle-même considérée comme l'une des tâches les plus difficiles parmi les transformations chimiques synthétiques. Depuis le siècle dernier, de nombreuses et diverses stratégies ont été développées pour la synthèse de spirohétérocycles et regroupées dans diverses publications, permettant aujourd'hui de rendre compte des avancées dans ce domaine. Ces revues présentent un panel de réactions sur lesquelles les chimistes peuvent aujourd'hui s'appuyer pour la construction de nouvelles charpentes spirocycliques.

De nombreuses méthodes qui ont été rapportées pour la synthèse des composés spirocycliques sont principalement les alkylations, les réactions de réarrangement, les cycloadditions, les réactions catalysées par les métaux de transition.

En outre, les composés spirocontenant le noyau pyrazolique possèdent des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, analgésiques, anti-VIH, anticancéreuses et hypoglycémiques.

Dans ce contexte, au cours de nos travaux, nous nous sommes intéressés dans un premier temps, à la préparation de diverses séries de molécules spirocycliques. Afin d'augmenter la diversité moléculaire, les structures envisagées sont des entités aminopyrazolones possédant un carbone spiranique.

V. Etude bibliographique sur la réactivité de l' amino-pyrazole.

Les squelettes de pyrazolone sont des unités structurales importantes qui se sont avérées être utilisées anti-inflammatoires, antiviraux, antitumoraux et antibactériens.⁴³ Exemple, le dérivé spirocyclique **A** avec une activité antimicrobienne,⁴⁴ **B** est un inhibiteur phosphodiesterase,⁴⁵ **C** est doué d'une activité antitumorale,⁴⁶ et **D** a une activité antibactérienne⁴⁷ (Figure 18).

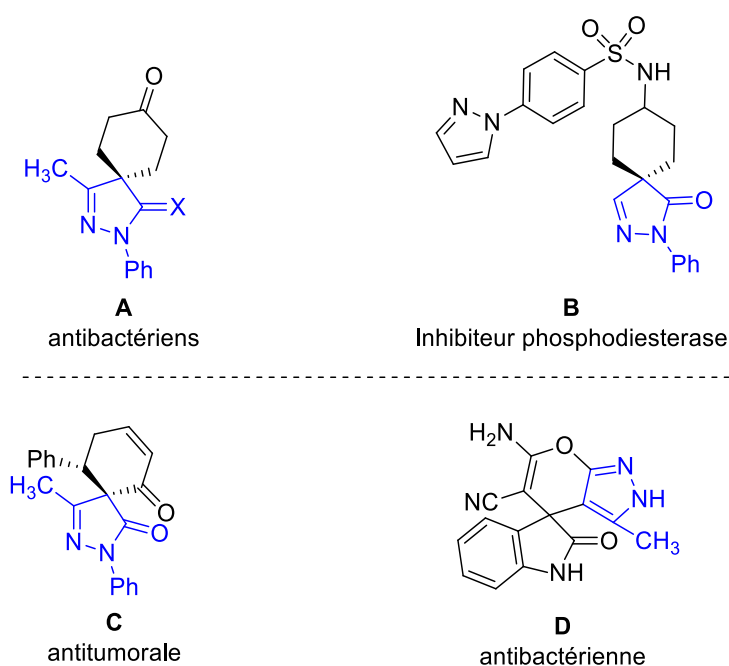


Figure 18

En outre les 4-spiro-5-pyrazolones et les pyrazole-5-thiones possèdent des propriétés biologiques précieuses, comme en témoignent leur activité miticide et leur utilisation comme antagonistes de PPAR α et les inhibiteurs des phosphodiesterases de type 4.⁴⁸

⁴³a) G. Varvounis. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2009**, 98, 143. b) A. Schmidt, A. Dreger. *Curr.Org. Chem.* **2011**, 15, 1423. c) V. Hadi, Y. Koh, T. W. Sanchez, D. Barrios, N. Neamati, K. W. Jung. *Bioorg.Med Chem. Lett.* **2010**, 20, 6854.

⁴⁴ a) Y. L. Janin. *Bioorg.Med. Chem.* **2007**, 15, 2479. b) M. S. Chande, P. A. Barve, V. Suryanarayan. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, 44, 49.

⁴⁵D. Hack, A. B. Dîrr, K. Deckers, P. Chauhan, N. Seling, L. Rîbenach, L. Mertens, G. dRaabe, F. Schoenebeck, D. Enders. *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.* **2016**, 55, 1797.

⁴⁶S. Wu, Y. Li, G. Xu, S. Chen, Y. Zhang, N. Liu, G. Dong, C. Miao, H. Su, W. Zhang, C. Sheng. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 115, 141

⁴⁷S. R. Mandha, S. Siliveri, M. Alla, V. R. Bommena, M. R. Bommineni, S. Balasubramanian. *Bioorg.Med. Chem.* **2012**, 22, 5272.

⁴⁸I. Tada, M. Motoki, N. Takahashi, T. Miyata, T. Takechi, T. Uchida, Y. Takagi, *Pestic. Sci.* **1996**, 48, 165.

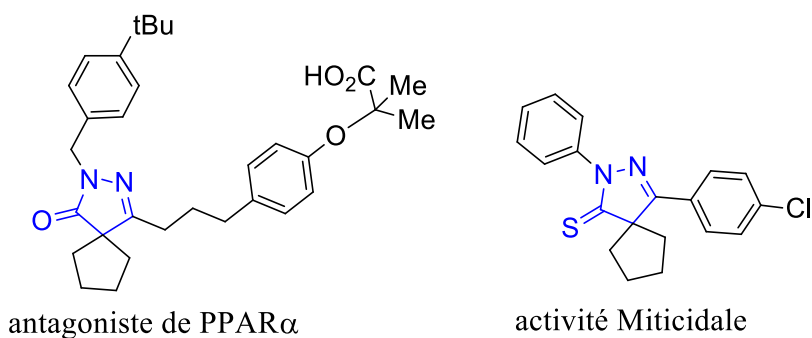
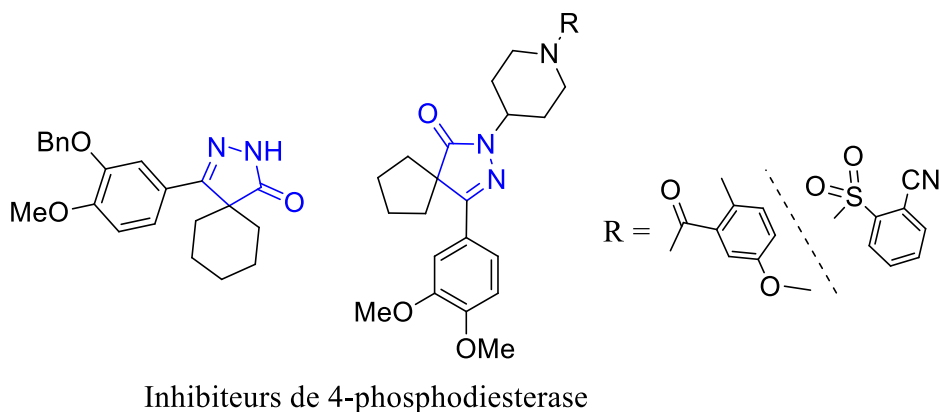


Figure 19

V.1. Condensation de l'amino-pyrazolone sur des composés hétérocycliques

L'utilisation de l'amino-pyrazolone comme agent d'hétérocyclisation a reçu une attention considérable ces dernières années. De fait, cette molécule s'est avérée être un synthon de choix dans la préparation de plusieurs composés hétérocycliques.

La méthode synthétique la plus importante, décrite par J. Quiroga et *al.*⁴⁹ consiste en la condensation de l'aminopyrazole avec des composés α , β -insaturés.

Le procédé de J. Quiroga a été utilisé par Schenone et *al.*⁵⁰ et Ochiai et *al.*⁵¹ pour la synthèse des composés **11.3**. La condensation de l'aminopyrazole **11.1** avec l'acrylate conduit à un intermédiaire ouvert **11.2**, ce dernier subit la cyclisation à reflux dans le trichlorure de phosphoryle (POCl_3), pour donner les pyrazolo[3,4-*b*]pyridines **11.3** (Schéma 11).

⁴⁹(a) J. Quiroga, B. Insuasty, S. Cruz, P. Hernandez, A. Bolanos, R. Moreno, A. Hormaza, R. H. Almeida, *J. Heterocycl. Chem.* **1998**, *35*, 333. (b) Z. Xiang, T. Shujiang, S. Feng, X. Jianing, *Arkivoc.* **2006**, 2,130.

⁵⁰S. Schenone, O. Bruno, P. Fossa, A. Ranise, G. Menozzi, L. Mosti, F. Bondavalli, C. Martinib, L. Trincavelli, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2529.

⁵¹ a) H. Ochiai, A. Ishida, T. Ohtani, K. Kusumi, K. Kishikawa, T. Obata, H. Nakai, M. Toda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 29. b) H. Ochiai, A. Ishida, T. Ohtani, K. Kusumi, K. Kishikawa, S. Yamamoto, H. Takeda, T. Obata, H. Nakai, M. Toda, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4089.

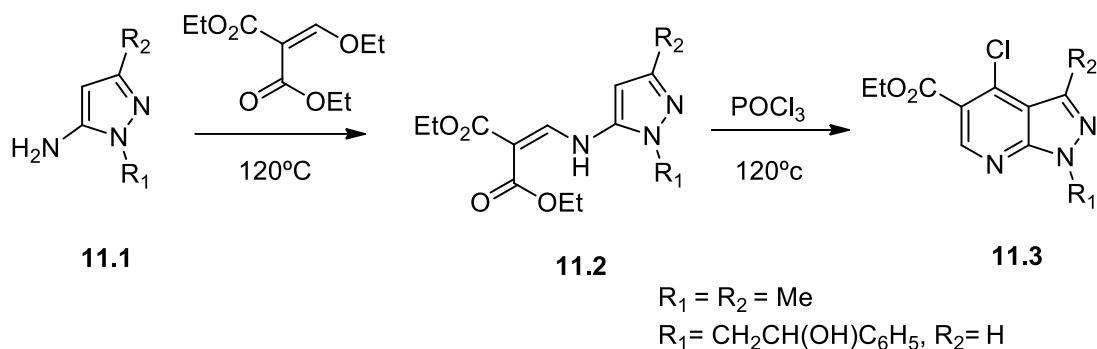


Schéma 11

La littérature décrit l'utilisation de l'aminopyrazolone dans une autre méthode de préparation des pyrazolo[3,4-*b*]pyridines. Mettant en jeu l'aminopyrazolone **12.1**, le 1,1-dithiométhane et le malononitrile ou l'éthyle 2-cyanoacétate.⁵²

Le traitement de ces composés par K_2CO_3 dans le dioxane, en présence du bromure de tétrabutylammonium (TBAB), conduit à l'acide pyrazolodithioïque, qui réagit *in situ* avec l'éthyle cyanoacétate ou malononitrile pour donner respectivement le composé **12.2** ou **12.3** (Schéma 12).

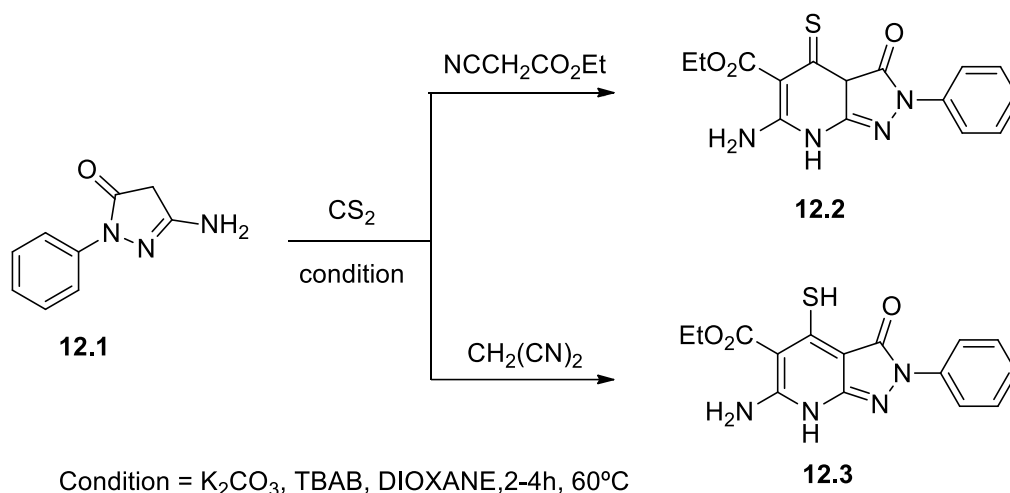


Schéma 12

De même, Xiang et *al.*⁵³ ont rapporté une méthode synthétique efficace des pyrazolo[3,4-*b*]pyridines **13.3** par la réaction de l'aminopyrazole **13.1** avec des aryles α, β -insaturés **13.2** sous l'irradiation hertzienne en présence de ZnCl_2 menant à des plus grands rendements et à des temps de réaction plus courts (Schéma 13). Les réactions ont été accomplies dans un délai de 8 à 12 minutes.

⁵²G. A. El-Saraf, A. M. El-Sayed, A. M. M. El-Saghier, *Heteroatom Chem.* **2003**, *14*, 211.

⁵³Z. Xiang, T. Shujiang, S. Feng, X. Jianing, *Arkivoc.* **2006**, *2*, 130

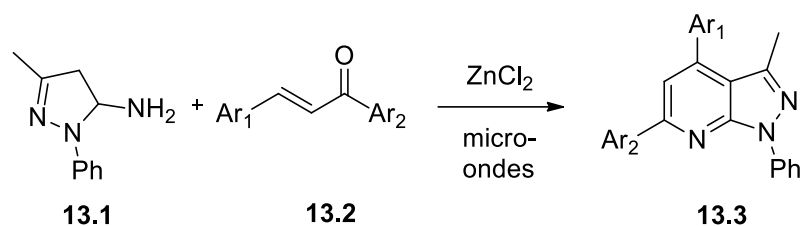


Schéma 13

Des travaux réalisés par S. Fadel et *al.*⁵⁴ ont 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 14).

Les tests biologiques ont été effectués sur les récepteurs sérotoninergiques les 5HT₇. Ils ont aussi réalisé antérieurement des travaux concernant la condensation de la 3-aminopyrazolone **14.1** avec la pyran-2-one **14.2**, pour obtenir les pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-3-ones **14.3** et **14.4** selon les réactions d'électrocyclisations intramoléculaires.

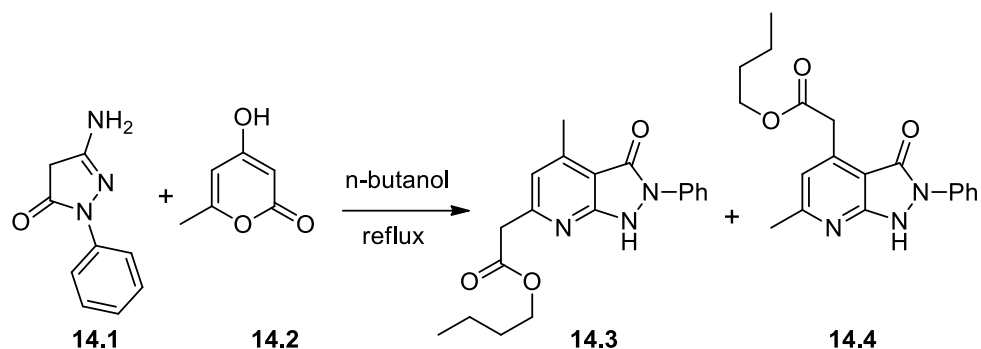


Schéma 14

V.2. Synthèse des spirohétérocycles à partir de l'aminopyrazolone

Diverses voies de synthèse ont été décrites dans la littérature pour accéder à des composés spirohétérocycliques à partir des aminopyrazolones.

Ainsi, A. Bazgir et *al.*⁵⁵ ont rapporté une procédure simple, à trois composants pour la synthèse de spiro[indoline-3,4'-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine]-2,6'(1'*H*)-diones **15.4** par réaction

⁵⁴ a) S. Fadel, Y. Hajbi, E. M. Rakib, M. Khouili, M. D. Pujol, G. Guillaumet, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 2195.

b) S. Fadel, S. Hamri, Y. Hajbi, F. Suzenet, A. Hafid, E.M. Rakib, M. Khouili, M. D. Pujol, G. Guillaumet, *Arkivoc.* **2011**, (ii), 240. c) S. Fadel, F. Suzenet, A. Hafid, E. M. Rakib, M. Khouili, M.D. Pujol, G. Guillaumet, *J. Heterocy. Chem.* **2009**, *46*, 1177.

⁵⁵ A. Bazgir; S. Ahadi, R. Ghahremanzadeh, H. R. Khavasi, P. Mirzaei. *Ultrason. Sonochem.* **2010**, *17*, 447.

de la 4-hydroxycoumarine **15.1**, des isatines **15.2** et du 1*H*-pyrazol-5-amine **15.3** dans l'eau sous irradiation par ultrasons. Les avantages de cette méthode sont l'utilisation d'un catalyseur peu coûteux et facilement disponible, un traitement facile, de bons rendements et l'utilisation de l'eau comme solvant qui est considéré comme relativement favorable à l'environnement (Schéma 15).

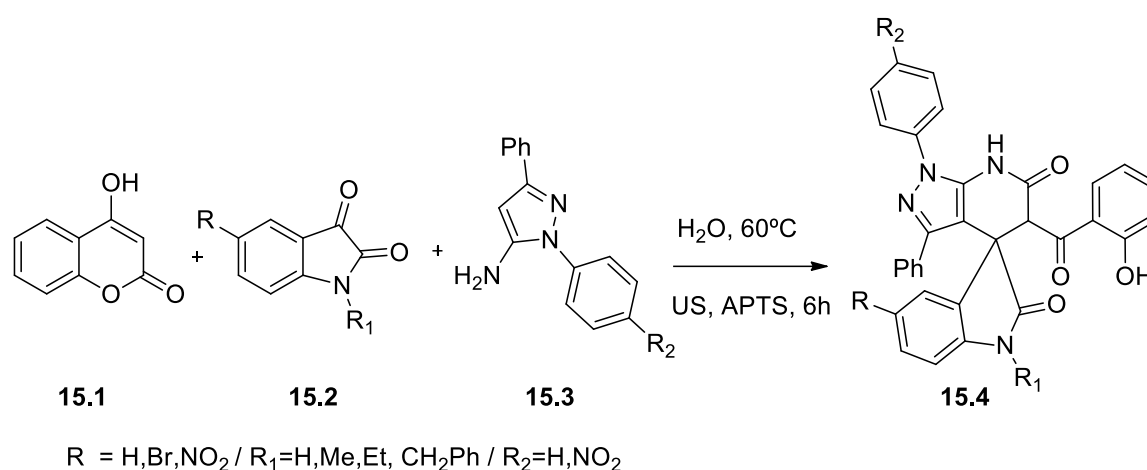


Schéma 15

En 2010, J. Quiroga et *al.*⁵⁶ ont décrit la réaction à trois composants entre le 5-(4-*R*-benzylamino)pyrazole **16.1**, le formaldéhyde **16.2**, et une β -dicétone cyclique **16.3** par chauffage classique ou par irradiation micro-ondes pour obtenir le pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-spirocycloalkanedione **16.4** (Schéma 16).

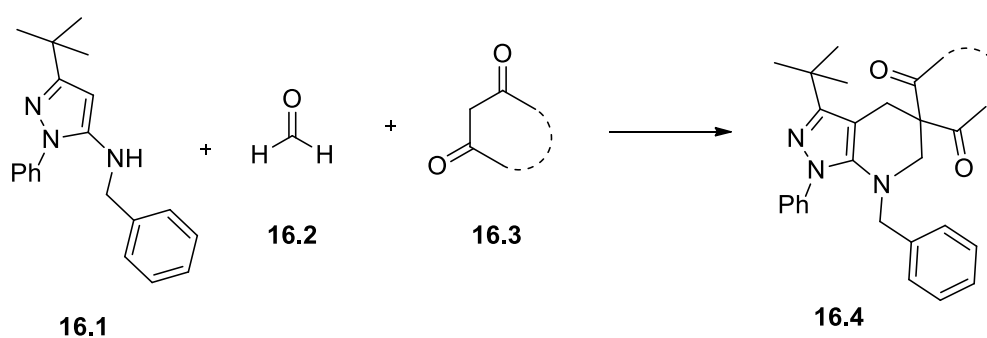


Schéma 16

⁵⁶ J. Quiroga, S. Cruz, J. Trilleras, D. Pantoja, R. Abonia, B. Insuasty, M. Noguerras, J. Cobo, *J. Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4717.

J. Quiroga et *al.*⁵⁷ et Z. Yin et *al.*⁵⁸ ont synthétisé des nouveaux pyrazolopyridine-spiroindolinones 17.4 selon la réaction de trois composants : le 5-aminopyrazole 17.1, l'isatine 17.2, et la β -dicétone cyclique 17.3 dans le milieu aqueux et catalysée par l'acide *para*-toluène sulfonique APTS.

Ce protocole offre une procédure simple en une seule étape avec les avantages des conditions réactionnelles douces et respectueuses de l'environnement.

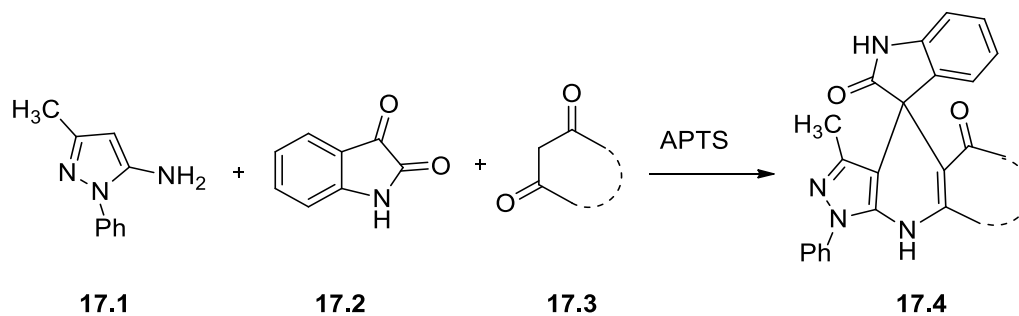


Schéma 17

Egalement, A. Dandia et *al.*⁵⁹ ont développé une approche directe et efficace pour la préparation de spiro[indoline-3,4'-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine] 18.5 à l'aide d'une réaction à trois composants, de l'isatine 18.1, l'ester α -cyanoacétique 18.3 ou le malononitrile et le 5-amino-3-méthylpyrazole 18.2 catalysé par le chlorure de sodium dans l'eau.

La formation de spiro-pyrazolo[3,4-*b*]pyridines 18.5 ou spiro-pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines 18.4 à l'aide d'un ester cyanoacétique a montré une diastéréosélectivité élevée. Cette régiosélectivité est due à la présence de deux centres nucléophiles supplémentaires dans l'aminopyrazole (Schéma 18).

⁵⁷ J. Quiroga, S. Portillo, A. Pérez, J. Gálvez, R. Abonia, B. Insuasty. *Tetrahedron.Lett.* **2011**, 52, 2664.

⁵⁸ Z. Yin, L. Yang, L. Wu. *J. Chem. Sci.* **2013**, 125, 601.

⁵⁹ A. Dandia, A. k. Laxkar, R. Singh. *Tetrahedron.Lett.* **2012**, 53, 3012.

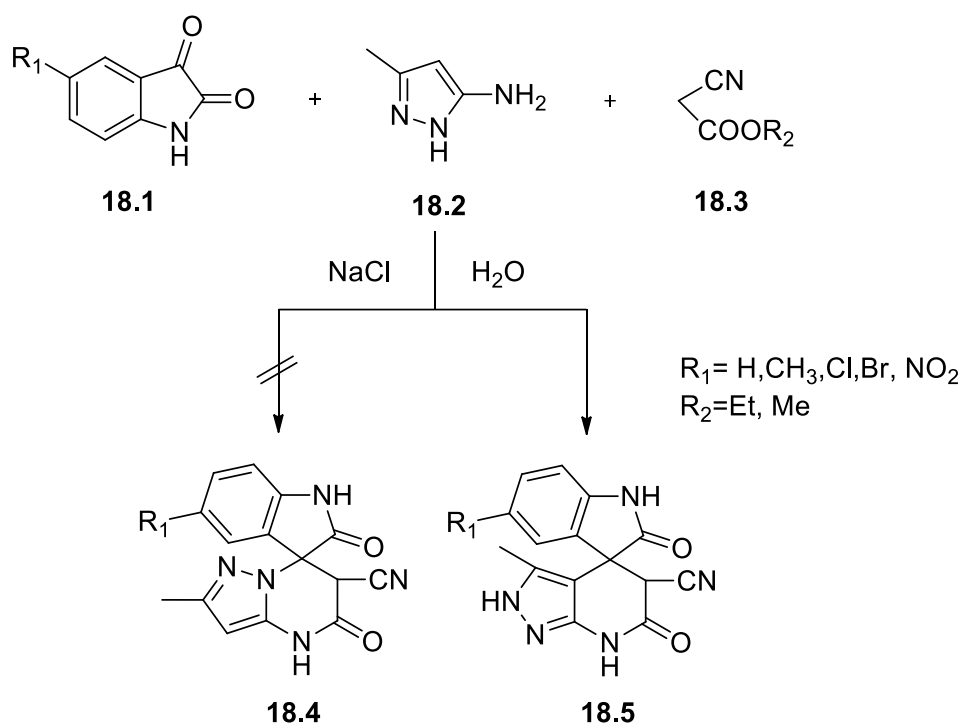


Schéma 18

V.3. Condensation de l'amino-pyrazole sur des aldéhydes

Arindam Ghosh et *al.*⁶⁰ ont rapporté la synthèse des dérivés pyrazolopyridiniques **19.4** en une seule étape par réaction à trois composants à partir de 4-hydroxycoumarine **19.1**, les aldéhydes **19.3**, et de 3-amino-5-méthylpyrazole **19.2** dans l'acétonitrile à reflux en utilisant 5% en mole de TBATB comme catalyseur.

La formation du produit dihydrochromeno[4,3-*b*]pyrazolo[4,3-*e*]pyridin-6(7*H*)-ones **19.4** est réalisée par le biais de réaction tandem Knoevenagel-Michael suivie par une cyclisation concomitante (Schéma 19).

⁶⁰A. Ghosh, A. T. Khan. *Tetrahedron.Lett.* **2014**, 55, 2006.

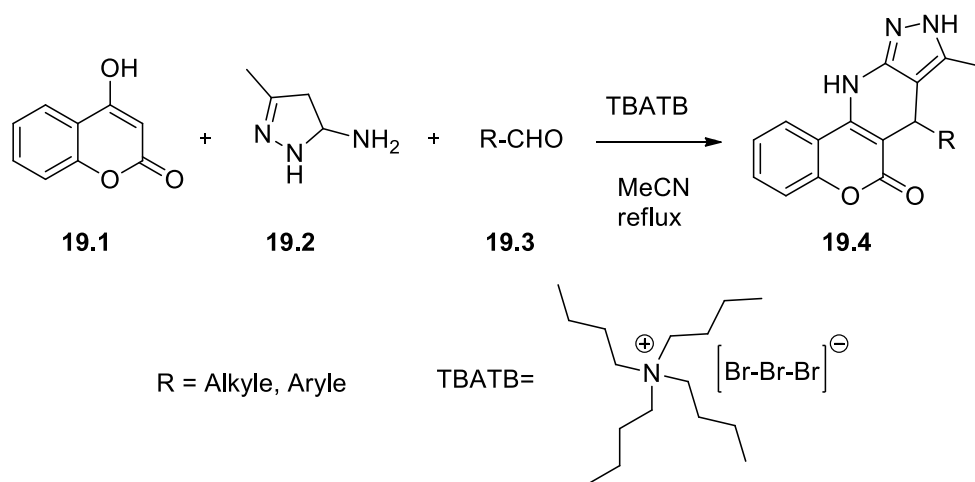


Schéma 19

Wang *et al.*⁶¹ ont rapporté la synthèse de nouveaux dérivés pyrazolopyridines **20.4** et **20.5** fonctionnalisés avec différents substituants, par des réactions multi-composants assistées par micro-ondes. Cette stratégie est réalisée entre l'aldéhyde **20.3**, 5-aminopyrazoles **20.2** et la cyclohex-2-énone **20.1** (schéma 20).

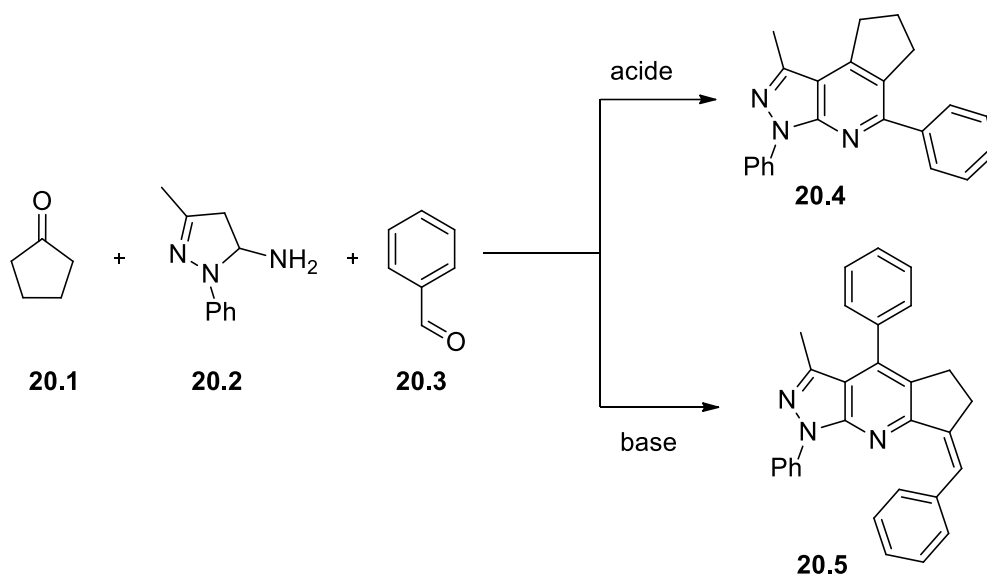


Schéma 20

S. B. Bharate *et al.*⁶² ont rapporté la synthèse de trois séries différentes de pyrazolo[3,4-*b*]pyridines **21.3**, **21.6** et **21.9** et leurs analogues structuraux utilisant une nouvelle stratégie de synthèse impliquant une condensation « one pot » de 5,6-dihydro-4*H*-

⁶¹ S. L. Wang, Y. P. Liu, B. H. Xu, X. H. Wang, B. Jiang, S. J. Tu. *Tetrahedron*. **2011**, 67, 9417.

⁶² S. B. Bharate, T. R. Mahajan, Y. R. Gole, M. Nambiar, T. T. Matan, A. Kulkarni-Almeida, S. Balachandran, H. Junjappa, A. Balakrishnan, R. A. Vishwakarma, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7167.

pyran-3-carbaldéhyde **21.1** / 2-formyl-3,4,6-tri-*O*-méthyl-D-glucal **21.7** / chromone-3-carbaldéhyde **21.4** avec des amines aromatiques (schéma 21).

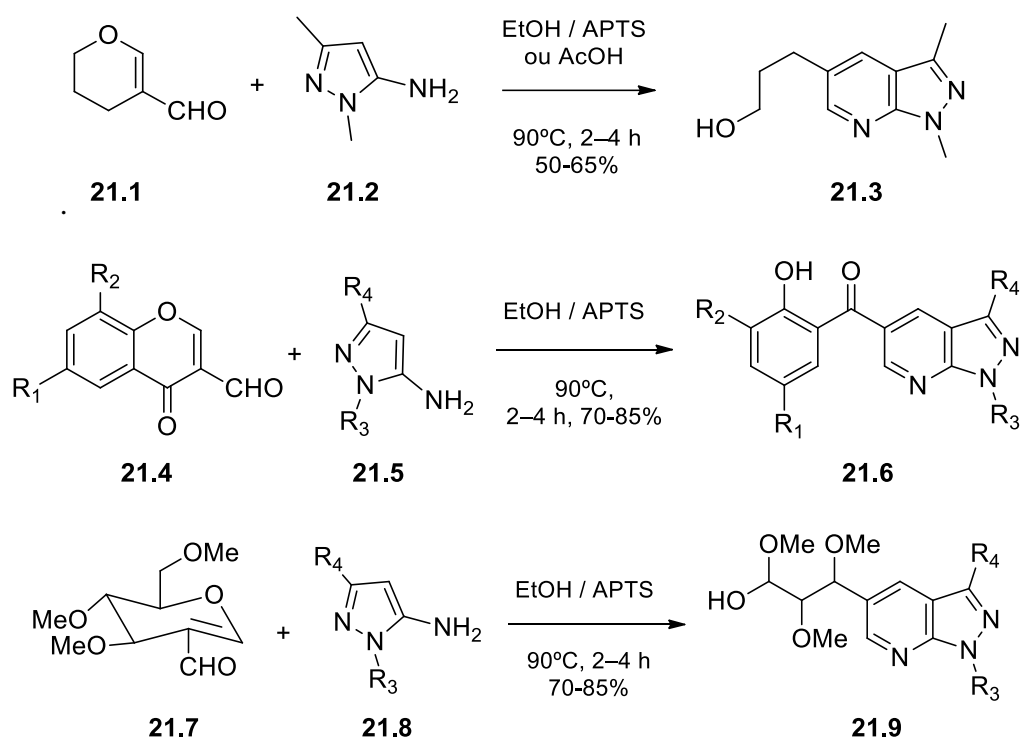


Schéma 21

El-Assiery et *al.*⁶³ ont réalisé la réaction d'addition de la 1-(2,4-dinitrophényl)-3-méthyl-1*H*-pyrazol-5(4*H*)-one **22.1** avec le 4-anisaldehyde.

Cette méthodologie décrit le traitement de la pyrazolone **22.1** avec le *p*-méthoxybenzylaldéhyde **22.2** et le malononitrile ou l'acétoacétate d'éthyle, en présence de l'acétate d'ammonium. Les composés obtenus sont respectivement les pyrazolopyridines **22.3** et **22.4** (Schéma 22).

⁶³S. A. El-Assiery, G. H. Sayed, A. Fouda. *Acta Pharm.* **2004**, *54*, 143.

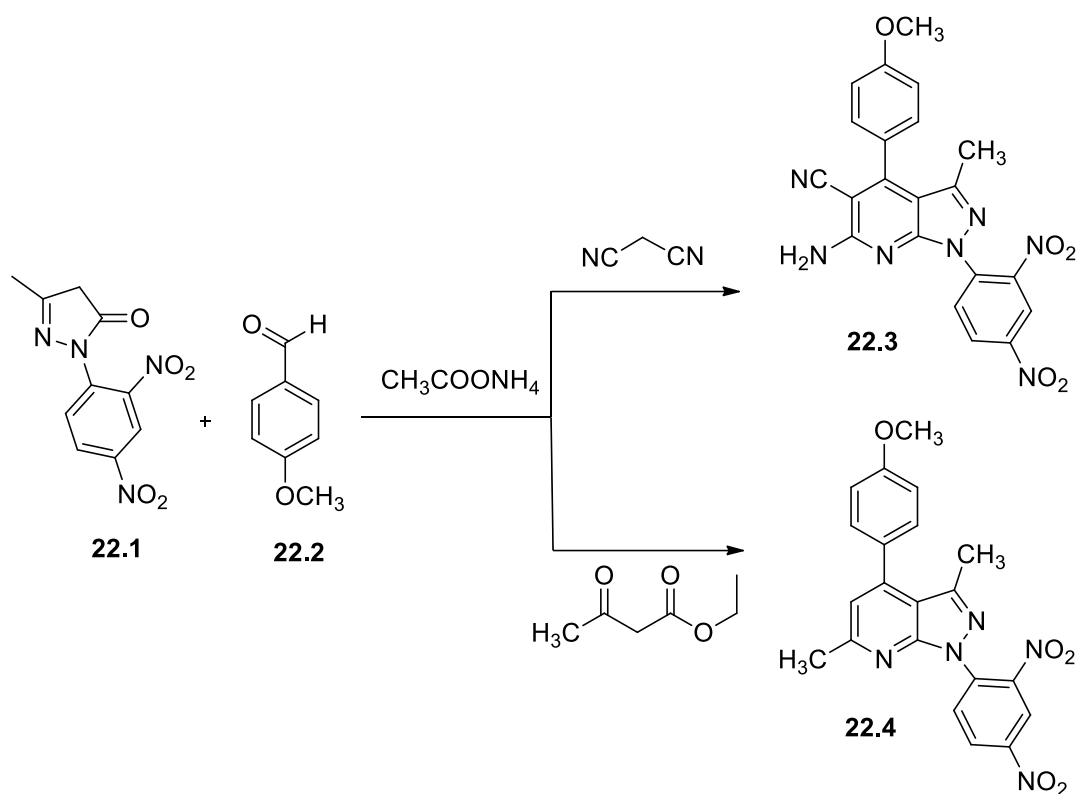


Schéma 22

Sobhani et *al.*⁶⁴ a réalisé la condensation de 1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone **23.1** avec des aldéhydes **23.2** selon la réaction tandem Knoevenagel-Michael, en utilisant un catalyseur hétérogène thermiquement stable : gel de silice 3-aminopropyl pour la synthèse de 4,4-(arylméthylène)-bis-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-ol) **23.3** (Schéma 23).

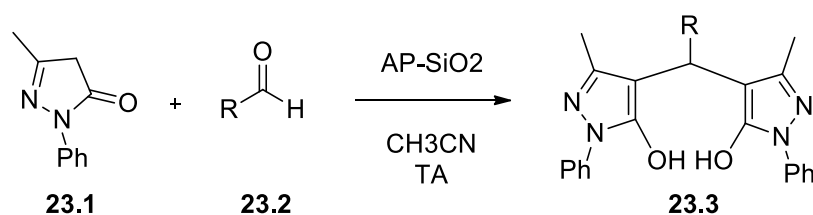


Schéma 23

D'une manière similaire Moosavi-Zare et *al.*⁶⁵ ont utilisé un nouveau catalyseur homogène et réutilisable : le liquide ionique chlorure de 1-sulfoypyridinium {[Pyridine-SO₃H] Cl} (schéma 24).

⁶⁴ S. Sobhani, A. Hasaninejad, M. F. Maleki, Z. P. Parizi, *Synth. Commun.* **2012**, *42*, 2245.

⁶⁵ A. R. Moosavi-Zare, M. A. Zolfigol, M. Zarei, A. Zare, V. Khakyzadeh, A. Hasaninejad. *Appl. Cata. A.* **2013**, *467*, 61.

Pour la synthèse de 4,4-(arylméthylène)-bis-(3-méthyl-1-phényl-1*H*-pyrazol-5-ol) **24.2** et **24.3** par réaction tandem Knoevenagel-Michael de 3-méthyl-1-phényl-1*H*-pyrazol-5-(4*H*)-one **24.1** avec divers aldéhydes aromatiques et hétéro-aromatiques dans des conditions de réaction légères.

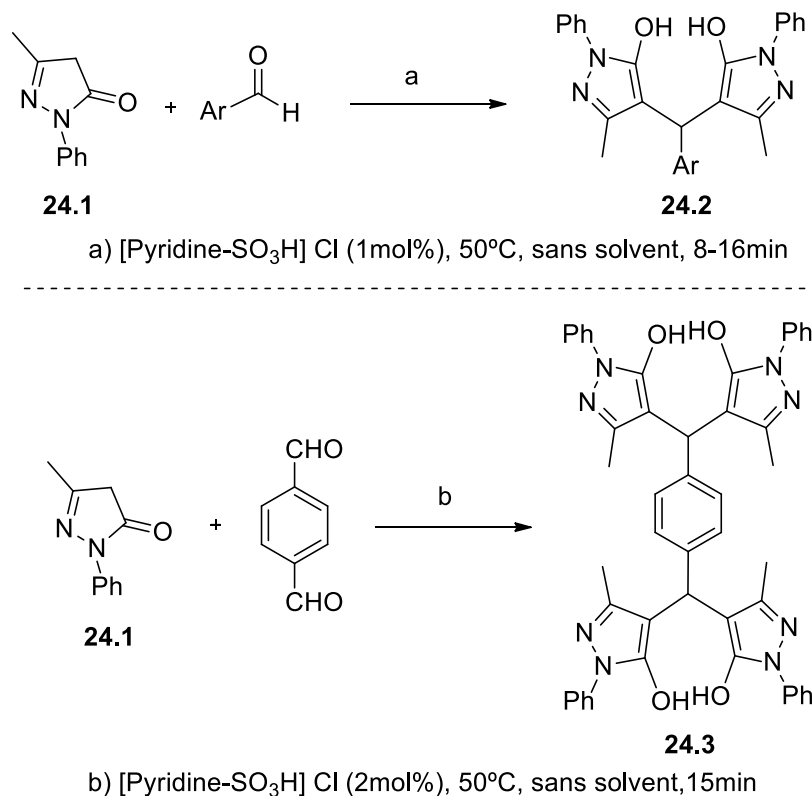


Schéma 24

L'équipe de Sobahi et *al.*⁶⁶ a isolé les dérivés de pyranodipyrazole **25.3** avec des moyens rendements (53-61%), en faisant réagir la pyrazolone **25.1** avec différents aldéhydes aromatiques **25.2**, en l'absence de solvant et en chauffant le mélange réactionnel à 160-170 °C (Schéma 25).

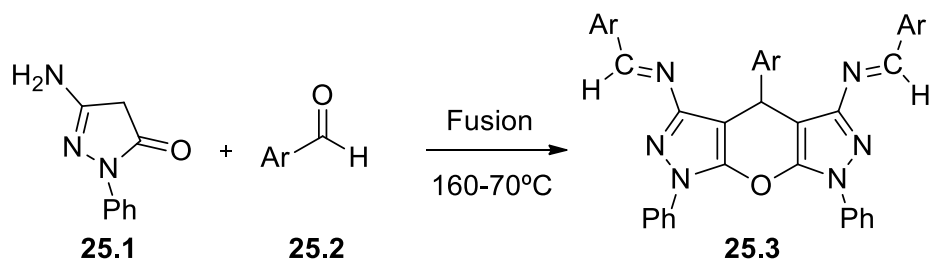
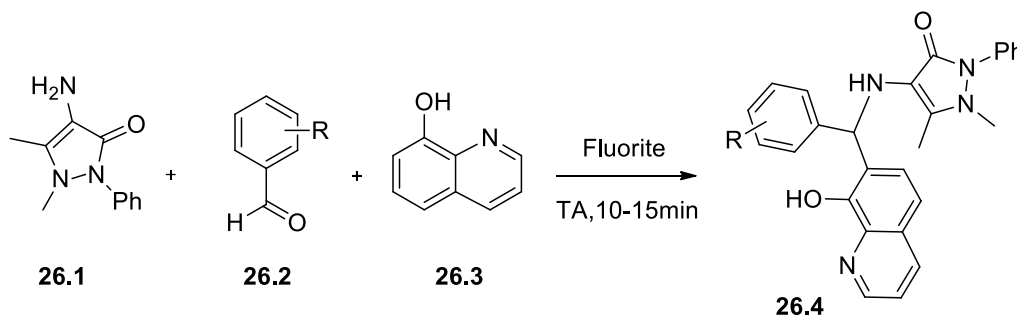


Schéma 25

⁶⁶ T. R Sobahi. *Indian. J. Chem.B.* **2006**, *45*, 1315.

Plus récemment, I.Mohanram et *al.*⁶⁷ ont décrit la synthèse des dérivés de la 4-aminoantipyrine **26.4** selon la réaction de Betti à trois composants, basée sur la condensation de l'aldéhyde aromatique **26.2**, de la 4-aminoantipyrine **26.1** et de la 8-hydroxyquinoléine **26.3** en présence de fluorite en tant que catalyseur pendant 10-15min à température ambiante ; le produit final est obtenu avec un rendement de 92 à 95% (Schéma 26).



V.4. Principales méthodes d'accès au noyau spiro-pyrazole

En raison de leurs excellentes propriétés biologiques, la synthèse des spiro-pyrazolones revêt d'une grande importance dans la chimie synthétique, et des grands efforts y ont été consacrés ces dernières années.⁶⁸ Diverses voies de synthèse ont été décrites dans la littérature pour accéder à ces composés hétérocycliques.

P. Sun et *al.*⁶⁹ ont rapporté le développement d'une nouvelle réaction séquentielle organo-catalytique et énantiosélective de Michael/ Michael/ Aldol des composés 1,3-dicarbonyle **27.2** avec des pyrazolones insaturées **27.1**, et des aldéhydes α,β -insaturés **27.3**, pour fournir les spirocyclohexanepyrazolones **27.4**.

Les caractéristiques notables de ce processus séquentiel « one pot » comprennent la génération de six centres de carbone stéréogéniques consécutifs (Schéma 27).

⁶⁷ I. Mohanram, J. Meshram. *ISRN.Org. Chem.* **2014**, 7.

⁶⁸a) P. Chauhan, S. Mahajan, D. Enders. *Chem. Commun.* **2015**, 51, 12890, b) Y. Zhang, S. Wu, S. Wang, K. Fang, G. Dong, N. Liu, Z. Miao, J. Yao, J. Li, W. Zhang, C. Sheng, W. Wang. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2030.c) D. Hack, P. Chauhan, K. Deckers, Y. Mizutani, G. Raabe, D. Enders, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 2266.d) S. R. Yetra, S. Mondal, E. Suresh, A. T. Biju. *Org. Lett.* **2015**, 17, 1417.e) F. Li, L. Sun, Y. Teng, P. Yu, J. C. G. Zhao, J. A. Ma. *Eur. J. Chem.* **2012**, 18, 14255.

⁶⁹P. Sun, C. Y. Meng, F. Zhou, X. S. Li, J. W. Xie. *Tetrahedron.* **2014**, 70, 9330-9336.

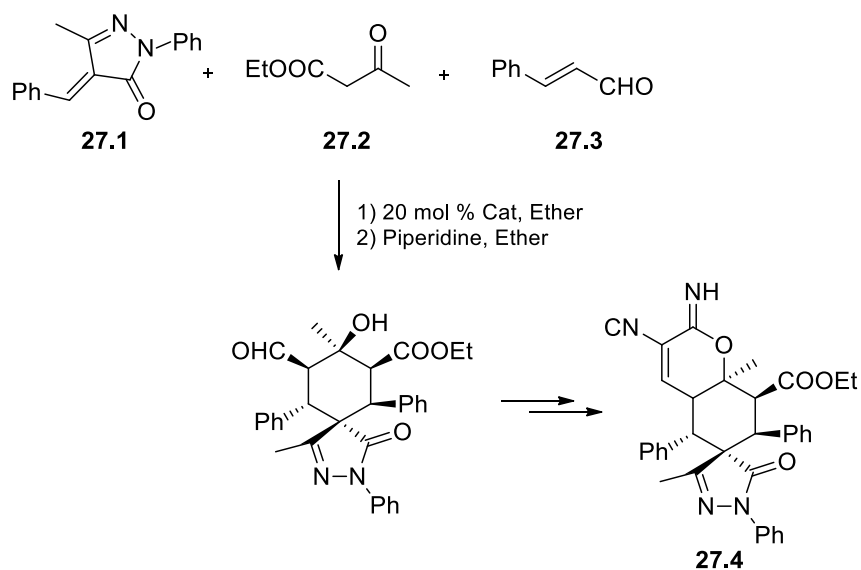


Schéma 27

En 2014, Lu et *al.*⁷⁰ ont rapporté une méthodologie pour la synthèse des spiropyrazolones **28.3** *via* une cycloaddition [4+1] catalysée par des phosphines chirales (Schéma 28).

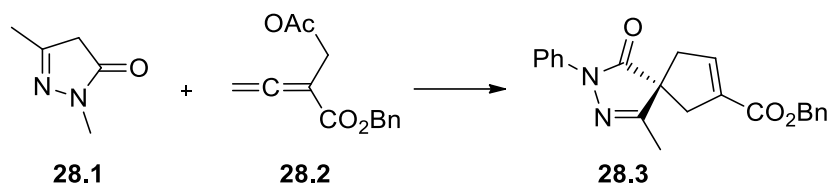


Schéma 28

Presque en même temps, Enders et *al.*⁷¹ ont développé une synthèse de spiropyrazolones **29.3** avec six centres vicinaux avec d'excellents rendements et énantiosélectivités, *via* une réaction d'addition 1,2 en cascade Michael /Michael (Schéma 29).

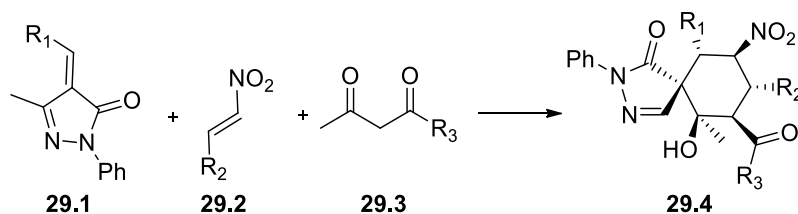


Schéma 29

⁷⁰ X. Han, Yao, T. Wang, Y. R. Tan, Z. Yan, J. Kwiatkowski, Y. Lu. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5643.

⁷¹ P. Chauhan, S. Mahajan, C. C. J. Loh, G. Raabe, D. Enders, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2954.

Par une autre méthode Victor Ceban et *al.*⁷² ont rapporté une synthèse hautement diastéréosélective des spiropyrazolones **30.3** catalysée par des amines secondaires. En utilisant la réaction en cascade de Michael-Aldol entre les méthylènes pyrazolones **30.1** et les dialdéhydes **30.2** (Schéma 30). Les spiropyrazolones sont obtenus avec des excellents rendements, et possédant quatre centres chiraux en tant que diastéréomère unique.

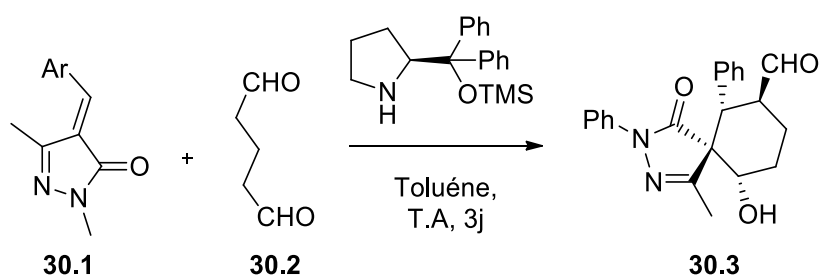


Schéma 30

B. Wang et *al.*⁷³ ont développé une nouvelle méthodologie pour élaborer de nouvelles tétrahydroquinoléine-spiropyrazolones **31.3** d'une manière simple, efficace et stéréosélective. Plus précisément, ils ont envisagé une réaction « one-pot » impliquant une condensation d'aldol intermoléculaire de l'*O*-dialkylaminobenzaldéhyde **31.1** avec la pyrazolone **31.2**, pour former le 4-alkylidènepyrazolone, suivi d'un procédé intramoléculaire de transfert de 1,5 hydrure / cyclisation à 6 endos, en utilisant le chlorure de zinc comme catalyseur avec des rendements élevés et des diastéréosélectivités excellentes (Schéma 31).

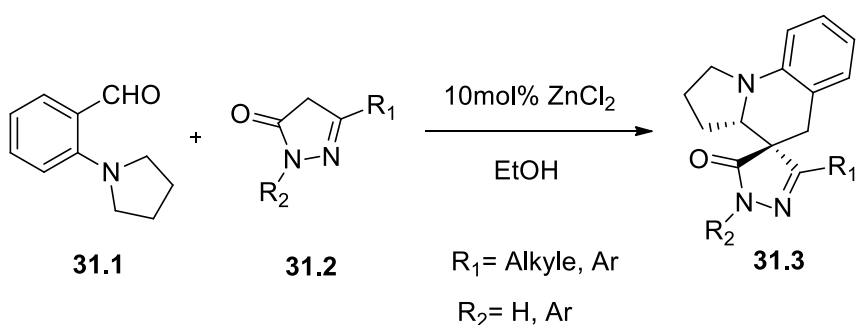


Schéma 31

⁷²V. Ceban, T. O. Olomola, M. Meazza, R. Rios. *Molecules*. **2015**, *20*, 8574.

⁷³B. Wang, T. Zhao, H. Zhang, L. Cui, J. Qu. *RSC Adv*. **2015**, *105*, 86056.

Plus tard, Enders et *al.*⁷⁴ ont publié la synthèse stéréosélective « one pot » de spiropyrazolones **32.3** à travers une addition organo-catalytique asymétrique de Michael, en faisant réagir la pyrazolone **32.1** et le nitroalcène **32.2** dans le chloroforme à 40 °C, en présence de 1% en moles d'un squaramide dérivé de la dihydroquinine DHQN-SA1 et de 3% en moles d'Ag₂O (Schéma 32).

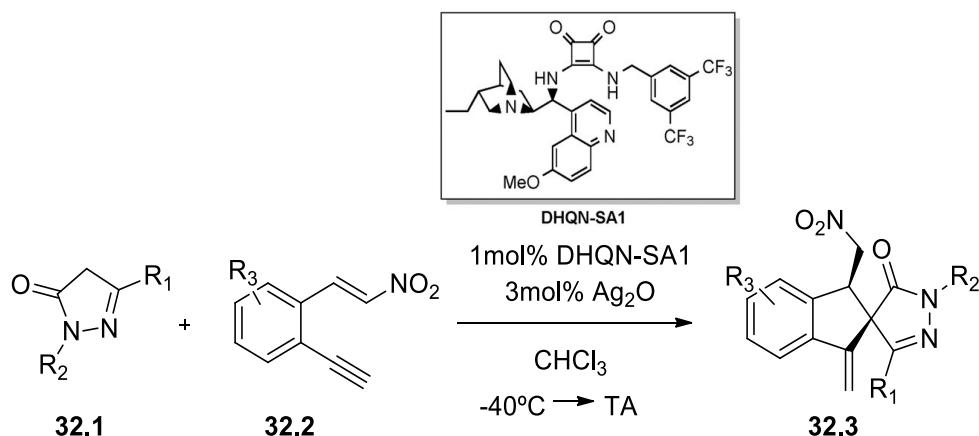


Schéma 32

Récemment, le même groupe⁷⁵ a développé une réaction multicomposant asymétrique « one pot » pour la synthèse de spiropyrazolones **33.3** en utilisant le carbène *N*-hétérocyclique (NHC) comme un organocatalyseur, en faisant réagir des pyrazolones insaturées **33.1** et énales **33.2** comme substrats *via* une réaction d'addition [3 + 2] (Schéma 33). Ce nouveau protocole permet une variation flexible des quatre substituants (R1-R4) des spiropyrazolones pharmaceutiquement importantes, avec des rendements modérés à très bons, et dans la plupart des cas avec d'excellentes diastéréosélectivités et excellentes énantiosélectivités.

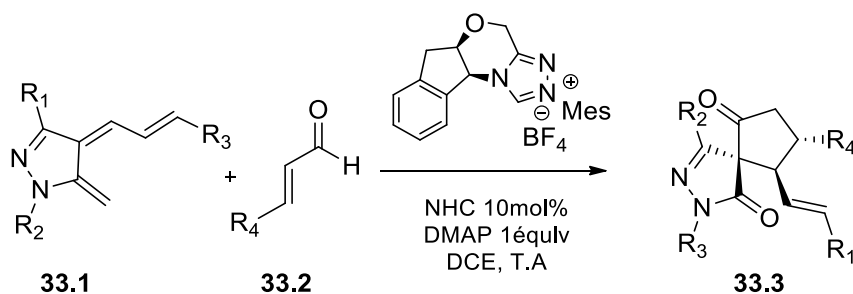


Schéma 33

⁷⁴ D. Hack, A. B. Durr, K. Deckers, P. Chauhan, N. Seling, L. R_Benach, L. Mertens, G. Raabe, F. Schoenebeck, D. Enders. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1797.

⁷⁵ L. Wang, S. Li, P. Chauhan, D. Hack, A. R. Philipps, R. Puttreddy, K. Rissanen, G. Raabe, D. Enders. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 5123.

VI. Conclusion

En conclusion, l'utilisation de l'aminopyrazolone est devenue une voie importante pour accéder facilement à des dérivés hétérocycliques variés, cet engouement s'expliquant par la grande réactivité électrophile, vis-à-vis des réactifs nucléophiles,

Les méthodes décrites dans la littérature démontrent que la condensation des dérivés aminopyrazoles avec les différents aldéhydes conduit à la synthèse des hétérocycles pyrazolopyridiniques ou des dérivés de pyrazoles. La littérature décrit la synthèse des dérivés portant un noyau spiropyrazolique selon différentes méthodes basées sur trois composés en présence de différents catalyseurs.

L'objectif de notre travail s'insère dans cette optique de synthèse de nouveaux spiropyrazoles, tout en utilisant un processus tandem de Knoevenagel /addition Michael /Knoevenagel, qui fera l'objet du chapitre suivant.

Chapitre II :

Synthèse de nouveaux composés spiropyrazoles

Partant de l'idée que les produits spirohétérocycliques jouissent d'une importance biologique qui ne cesse de s'amplifier comme nous l'avons vu dans l'étude bibliographique, nous avons essayé à travers une série de synthèses de préparer quelques dérivés de cette famille et cela *via* la réaction de Knoevenagel. La réaction mise en jeu concerne la préparation des nouveaux composés spirocyclique à structure pyrazolopyridinique par condensation de l' amino-pyrazolone avec différentes aldéhydes aromatiques.⁷⁶

I. Réaction de Knoevenagel

La réaction de Knoevenagel est la méthode la plus utilisée pour la synthèse des doubles liaisons C=C, en chimie organique.⁷⁷ Ces condensations se produisent entre les aldéhydes et les cétones réagissant avec les composés de méthylène qui deviennent actifs en présence d'une base faible et permettent ainsi d'obtenir des composés α , β -insaturés de dicarbone accompagnés de la formation d'une molécule d'eau.

Emil Knoevenagel a rapporté en 1896, la condensation catalysée par la diéthylamine, du malonate diéthylique **34.2** avec du formaldéhyde **34.1** et a pu isolé le tétra-éthyle propane-1,1,3,3-tétra-carboxylate **34.3**.⁷⁸ Deux ans après, il a réalisé la réaction de l'aldéhyde benzoïque **34.4** avec l'acétoacétate éthylique **34.5** en utilisant la pipéridine comme catalyseur. Il obtient alors de l'acétoacétate éthylique de benzylidène **34.6** comme produit final avec des rendements intéressants (Schéma 34).⁷⁹

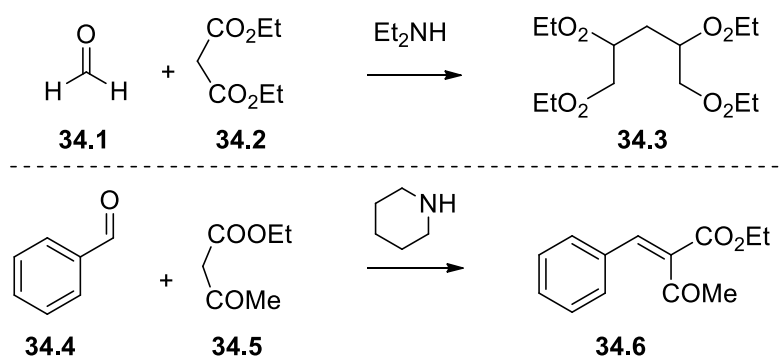


Schéma 34

⁷⁶J. Zaiter, H. Achibat, O. Amiri, A. Hafid, M. Khouili, E. M. Rakib, C. M. B. Neves, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, F. A. Almeida Pazc, M. A. F. Faustino. *New. J. Chem.* **2015**, 39, 6738.

⁷⁷T. Laue, A. Plagens. *J. Chem. Educ.* **2005**, 82, 470.

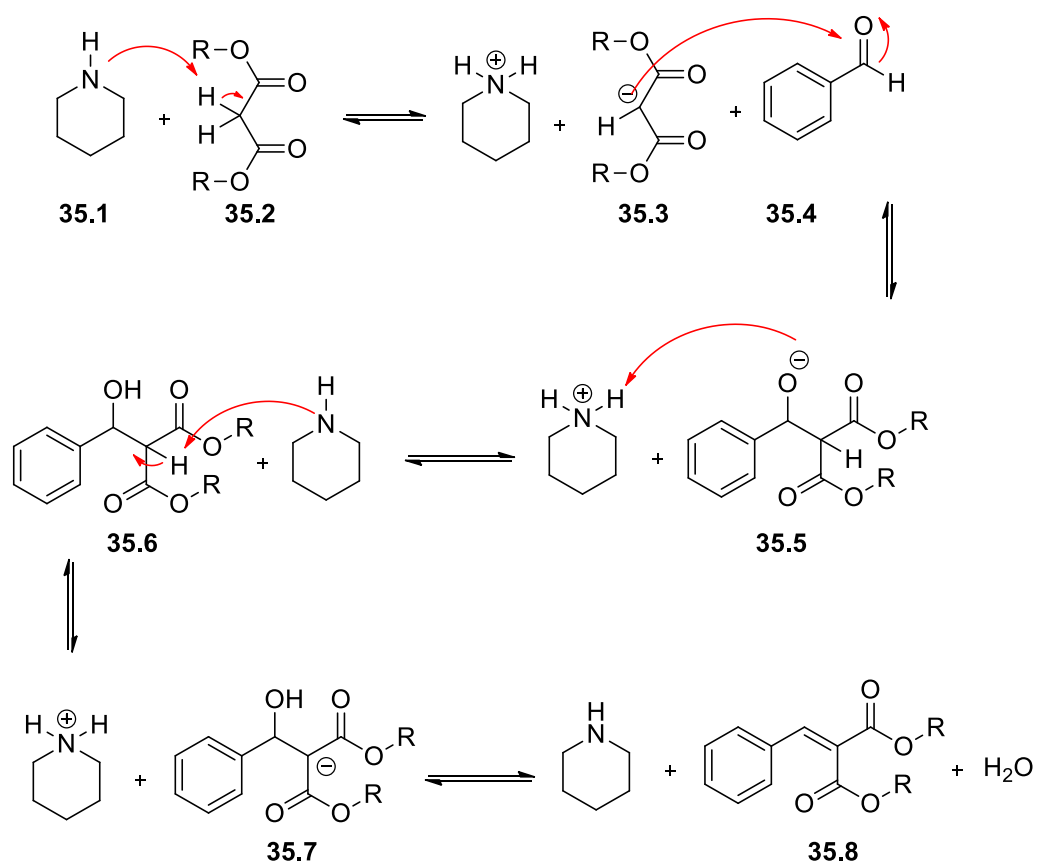
⁷⁸E. Knoevenagel. *Chem. Ber.* **1896**, 29, 172.

⁷⁹J. D. Lopez-Gonzalez, A.J. Lopez Peinado, R.M. Martin-Aranda, M.L. Rojas-Cervantes, *Carbon*, **1993**, 31, 1231.

Après la première description de la réaction de Knoevenagel, des changements ont été introduits, suivant la modification de Doebner, en utilisant la pyridine comme solvant et la pipéridine comme catalyseur.⁸⁰

Le mécanisme général de la réaction de Knoevenagel illustré sur le schéma 35 montre la déprotonation du dérivé de malonate **35.2** par la pipéridine **35.1** suivi de l'attaque par le carbanion qui forme les composés **35.3** et **35.4** ainsi qu'une réaction d'aldolisation menant au produit **35.5**.

Après l'étape de transfert de protons entre la base protonée et le composé **35.5**, le composé intermédiaire **35.6** se forme, qui déprotoné mène au composé **35.7**, ensuite au produit d'élimination **35.8** dans la dernière étape.



⁸⁰J. McNulty, J. Steer, S. Wolf. *Tetrahedron.Lett.* **1998**, 39, 8013.

II. Elaboration de nouvelles structures spiro-pyrazoliques

Plusieurs travaux cités dans la littérature,⁸¹ ont démontré que la condensation de Knoevenagel, de 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one **1** avec des aldéhydes aromatiques, en présence d'un catalyseur : [Pyridine-SO₃H]Cl, diacétate d'éthylènediammonium (EDDA), oxyde de magnésium (MgO), bromure de lithium, fluorure de potassium, permet d'obtenir les dérivés de benzylidène-pyrazolin-5-one ou les dérivés des pyrazolopyridiniques.

Contrairement aux résultats décrits dans la littérature, lorsque nous avons réalisé la condensation de 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one **1** avec le benzaldéhyde selon la condensation de Knoevenagel, la réaction engendre la formation de deux nouveaux composés spiro inattendus **5** et **6** (Schéma 36).⁸²

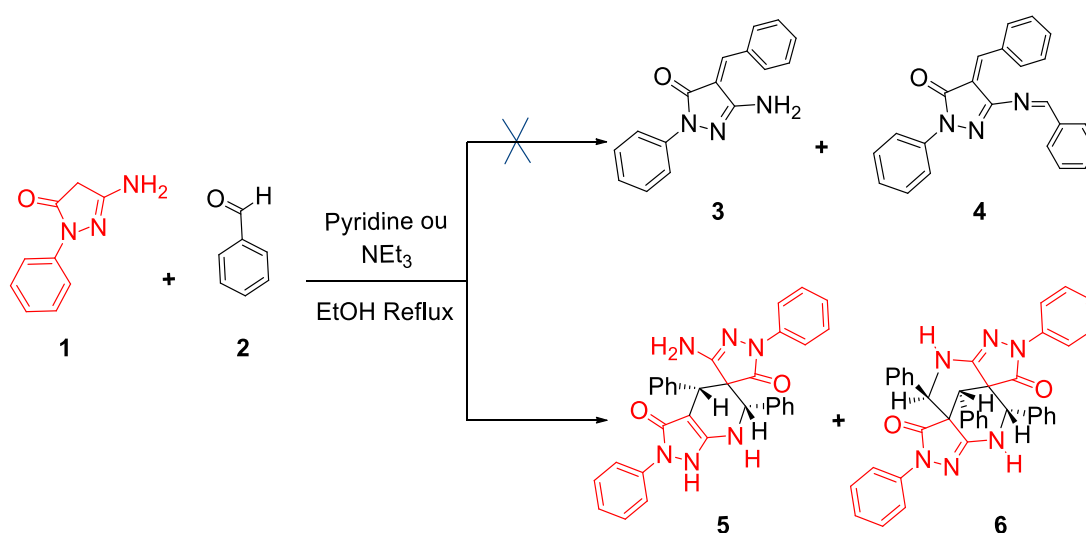


Schéma 36

⁸¹ a) S. A. Forsyth, U. Frohlich, P. Goodrich, Q. N. Gunaratne, C. Hardacre, A. McKeown, K. R. Seddon, *New J. Chem.* **2010**, 34, 723. b) Y. Zhang, C. Xia, *Appl. Catal.* **2009**, 366, 141.

⁸²J. Zaiter, H. Achibat, O. Amiri, A. Hafid, M. Khouili, E. M. Rakib, C. M. B. Neves, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, F. A. A. Pazc, M. A. F. Faustino, *New J. Chem.* **2015**, 39, 6738.

II.1. Optimisation de la condensation du 1-phényl-3-aminopyrazol-5-one avec le benzaldéhyde selon la condensation de Knoevenagel.

Lorsqu'un mélange de 3-amino-1-phényl-2-pyrazolin-5-one **1** et de benzaldéhyde, est maintenu au reflux de l'éthanol pendant 24 heures, cela engendre la formation des composés **5** et **6** en plus du produit de départ **1**, qui n'a pas été totalement consommé (Schéma 36). En revanche utilisation d'un léger excès du réactif **2**, partiquement 1,2 équivalents, conduit exclusivement aux deux produits seuls **5** et **6**.

Tableau 1 : Optimisation de la condensation du 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one **1** avec du benzaldéhyde

Entree	base	solvant	temps	Rendement%	
				5	6
1	Triethylamine	EtOH	1h	35	60
2		DCM	2h30min	15	35
3		Toluène	4h	10	36
4		Chlorobenzène	3h	25	30
5	Pyridine	EtOH	1h	45	35
6		DCM	2h30min	10	25
7		Toluène	4h	15	15
8		Chlorobenzène	3h	20	20

Il est à noter que l'utilisation de 1,2 équivalent du réactif **2** a conduit à des meilleurs résultats et à la consommation totale du produit de départ. Pour le choix de solvant, nous avons réalisé la réaction dans différents solvants en utilisant les deux bases, la triéthylamine et la pyridine, tout en gardant les mêmes conditions optimisées dans le tableau 1. Suite aux résultats obtenus, nous constatons que les rendements de la réaction étudiée dépendent de la nature de solvant et de la base utilisée. En plus pour les deux bases, nous remarquons, que l'éthanol reste le meilleur solvant de la réaction.

Au vu des différents essais réalisés, les conditions optimales sont donc finalement celles pour lesquelles nous utilisons : 1 équivalent du 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one **1**, pour 1,2 équivalent de benzaldéhyde **2** dans l'éthanol à reflux pendant 1 heure, en présence de quelques gouttes de la triéthylamine (en quantité catalytique).

Avant de généraliser les conditions de la réaction en utilisant d'autres aldéhydes, les composés de la réaction **5** et **6** obtenus, ont été identifiés et caractérisés.

II.2. Caractérisation des composés 5 et 6

Les produits obtenus **5** et **6** sont identifiés et caractérisés par différentes méthodes spectroscopiques.

II.2.1. Etude par RMN (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC) du composé spiro **5**

D'après le spectre RMN ^1H (figure 20) enregistré pour le composé **5** on note dans la zone des champs forts, la présence de deux singulets à δ 4,72 et δ 5,00 ppm, correspondant aux protons H-5 et H-12, respectivement. Les protons en *ortho* de phényle lié au carbone C12 résonne sous forme de doublet dédoublé à 7.66 ppm avec des constantes de couplage $J= 8.7$ Hz et $J= 1.1$ Hz. Les autres protons aromatiques résonnent sous forme de multiplet entre 7.55 et 7.04 ppm. Les spectres RMN ^{13}C du composé **5** est également présenté sur la figure 21.

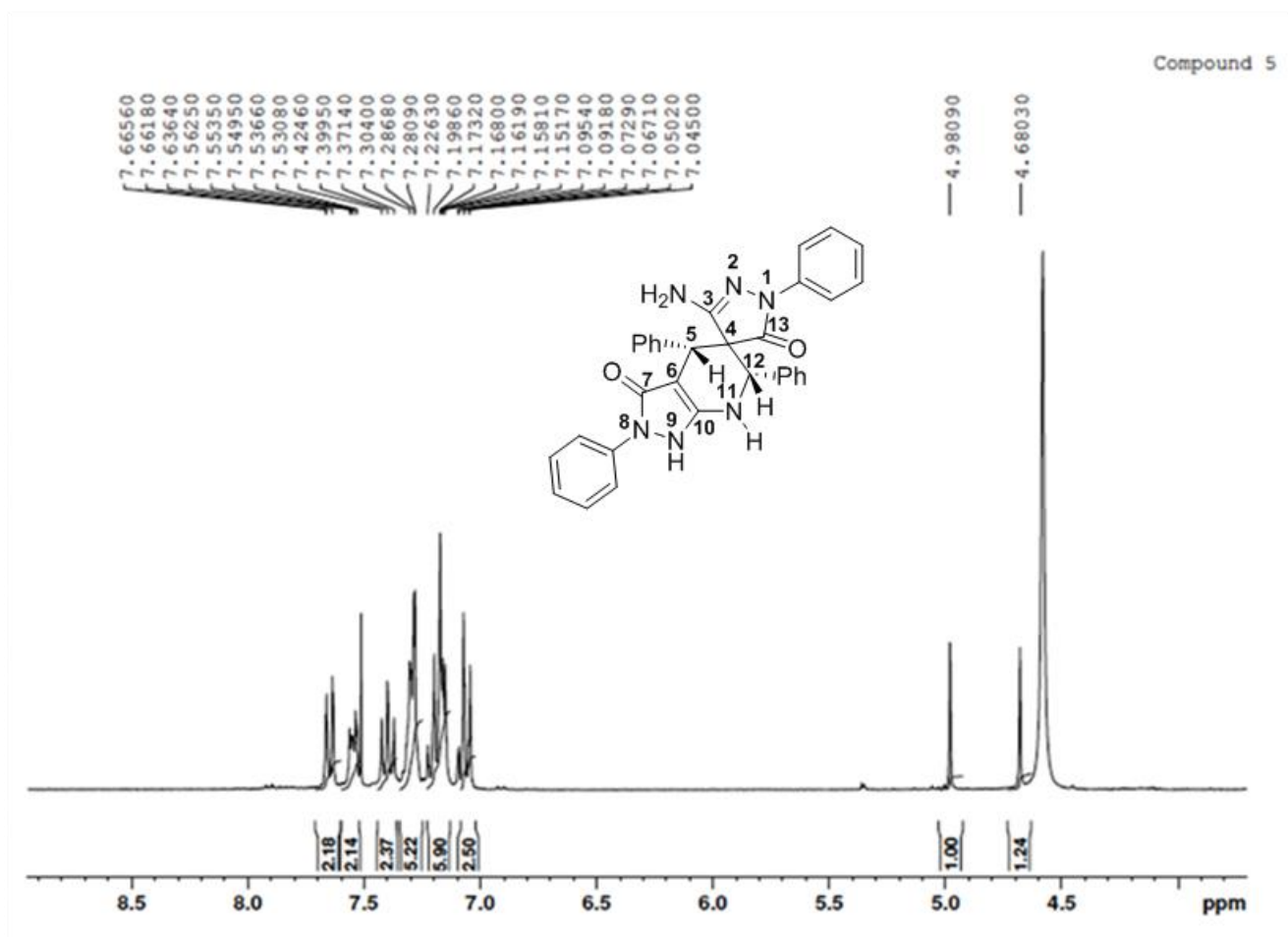


Figure 20 : Spectre RMN ^1H pris dans CDCl_3 du composé spiro **5**.

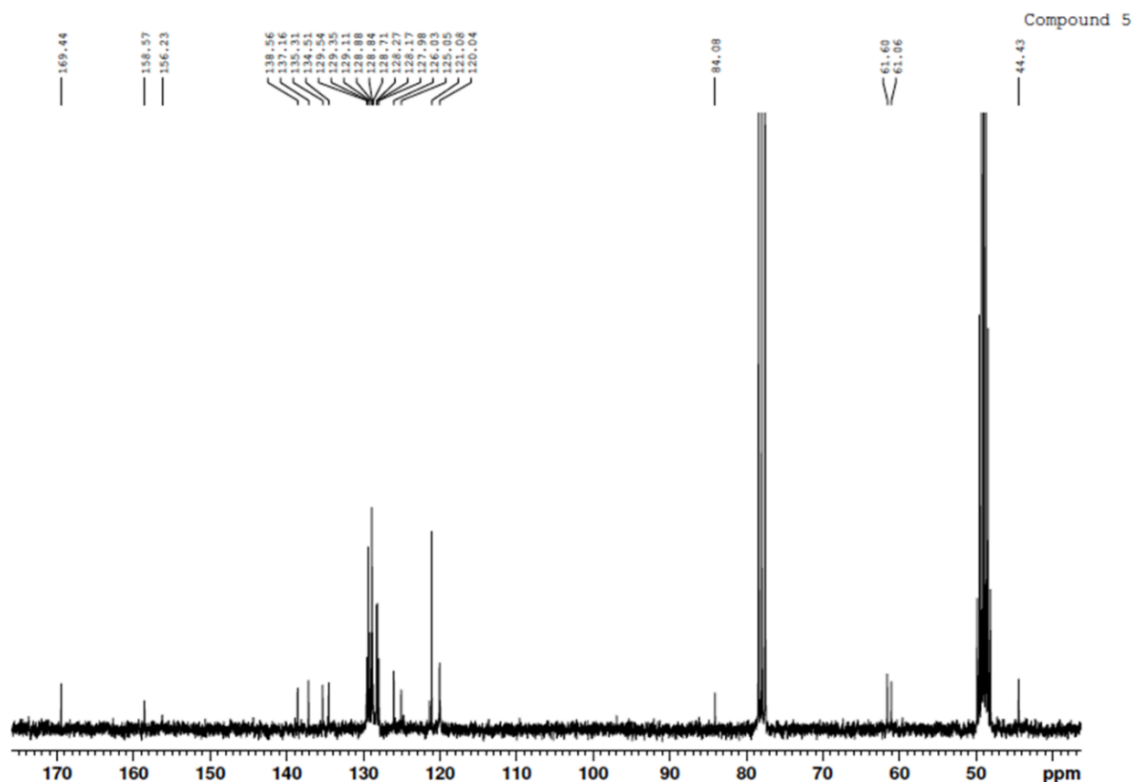


Figure 21 : Spectre RMN ^{13}C pris dans CDCl_3 du composé **5**

Pour élucider la structure du composé **5**, nous avons fait appel à la RMN 2D. Par la suite, nous avons réalisé une expérience HSQC (Figure 23) qui va nous renseigner sur les corrélations entre les protons et les carbones qui les portent ($^1\text{J}_{\text{C}-\text{H}}$) (Figure 22) et ainsi localiser les différents protons.

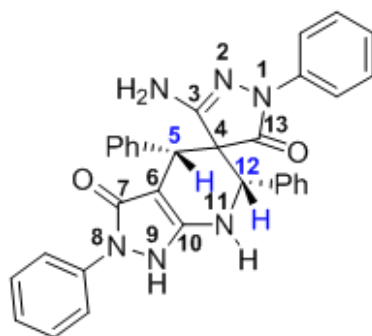


Schéma 37. La structure du composé **5**

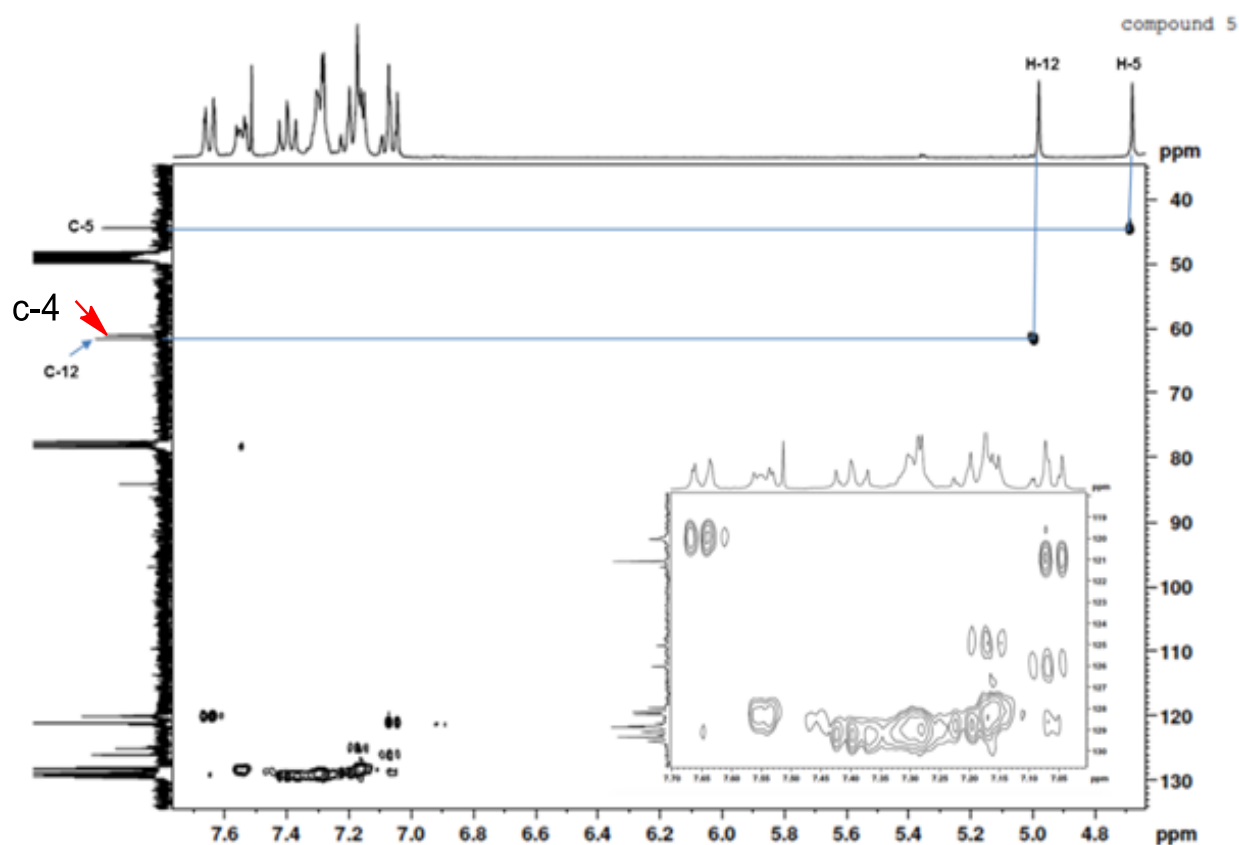
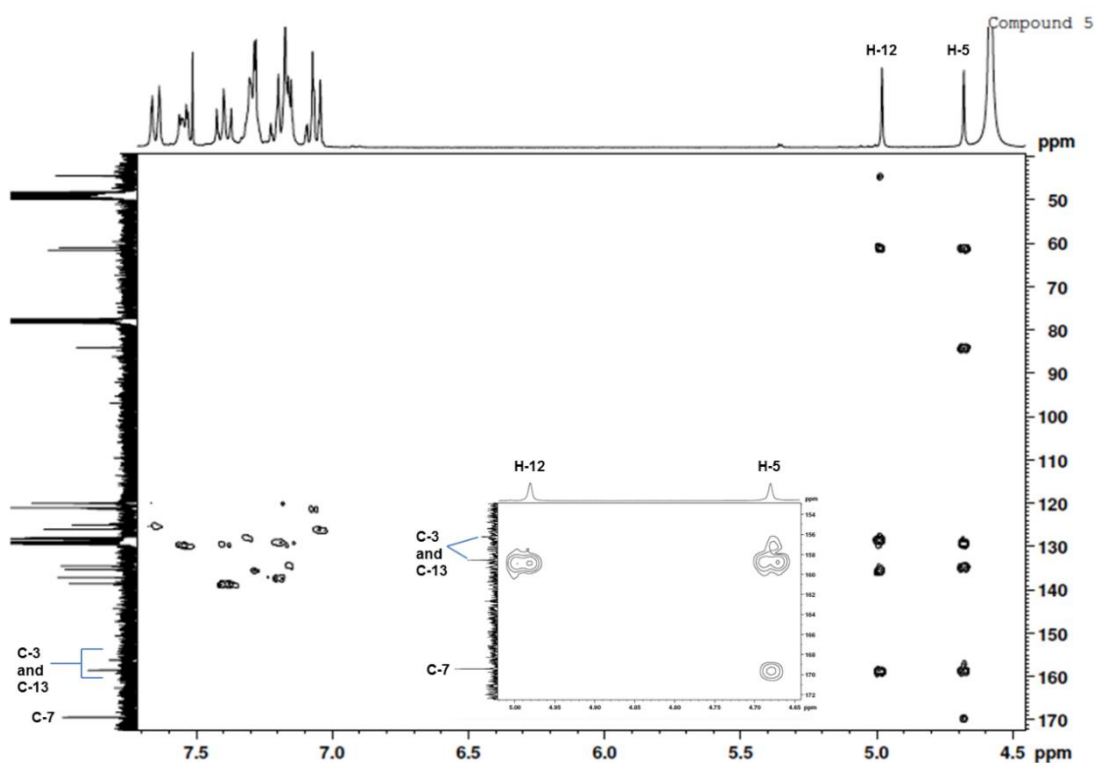


Figure 22. Spectre de HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de composé 5.

La répartition des résonances carbone les plus importantes était possible en fonction de l'analyse HSQC, qui montre que les protons H-5 et H-12 sont liés respectivement aux carbones C-5 et C-12. Ainsi les carbones aliphatiques C-5 et C-12 résonnent, respectivement, à 44,2 ppm et 61,4 ppm, et le carbone spiro C-4 résonne à 60,8 ppm.

Une fois ces deux protons et ces carbones sont identifiés, nous pouvons alors procéder à l'exploration de leur environnement en utilisant la technique HMBC (Figure 24) qui va nous renseigner sur la corrélation $^2\text{J}_{\text{C-H}}$ et $^3\text{J}_{\text{C-H}}$.



Figur 23. Spectre HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) du composé **5**.

Considérant la structure de composé **5**, on peut s'apercevoir que le proton H-5 peut être corrélé aux trois carbones C3 et C7, avec des constantes de couplage $^3J_{\text{C-H}}$, et corrélé au carbone C4 avec $^2J_{\text{C-H}}$. Alors que le proton H-12 peut être corrélé aux deux carbones C13 par une constante de couplage $^3J_{\text{C-H}}$ et C4 via $^2J_{\text{C-H}}$.

À partir de l'analyse HMBC, les signaux à 169,4, 158,6 et 156,2 ppm ont été attribués respectivement aux carbones : amides C-7, imino C-3 et amide C-13.

II.2.2. Etude par RMN (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC et NOESY) du composé spiro **6**

Dans la zone aliphatique du spectre RMN ^1H du composé **6** (Figure 25) on note la présence d'un singulet à 4,04 ppm correspondant à la résonance de H-5 et de quatre doublets larges.

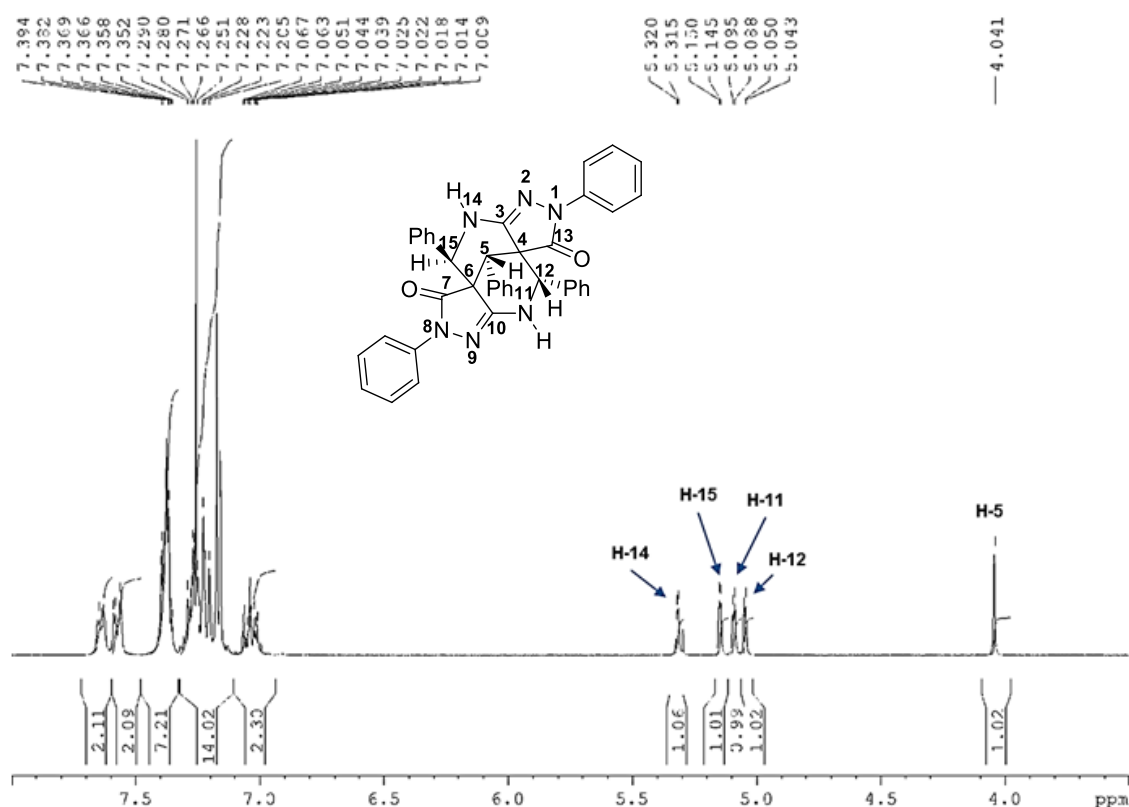


Figure 24. Spectre RMN ^1H pris dans CDCl_3 du composé spiro **6**.

Par analyse HSQC, on a constaté que les doublets à 5.10 et 5.32 ppm ne sont pas corrélés avec un carbone et ont été attribués aux protons de NH (Figure 26).

La corrélation COSY entre les doublets à 5.04 et 5.10 ppm et de ceux à 5.15 et 5.32 ppm a permis leur identification comme H-12 et H-11, et des résonances H-15 et H-14 respectivement (Figure 27).

Le spectre de NOESY montre les pics croisés NOE entre les doublets à 4.04 ppm (H-5) et 5.04 ppm (H-12) indiquant que ces protons sont dans le même plan, ce qui correspond à la structure proposée et aux affectations précédentes (Figure 28).

L'analyse des spectres HSQC et HMBC a permis d'identifier les résonances carbone des carbones Spiro C-4 et C-6 (56,9 ppm et 54,5 ppm), les carbones des groupes imino C-3 et C-10 (δ 166,0 Et δ 166,6 ppm), les carbones des groupes amide C-7 et C-13 (157,4 ppm et 157,5 ppm) et les carbones aliphatiques C-5, C-12 et C-15 (46,9 ppm, 67,7 ppm et 61,0 ppm).

De plus, les résonances des carbones quaternaires ont été confirmées par le spectre DEPT 135.

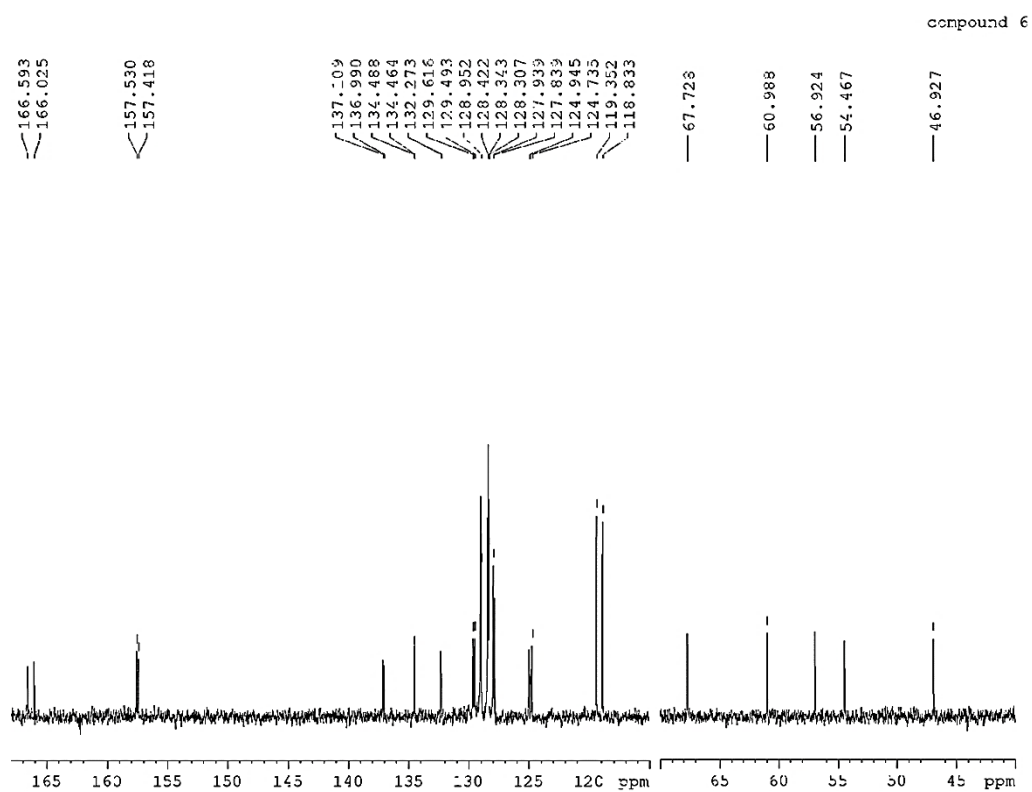


Figure 25. Spectre RMN ^{13}C pris dans CDCl_3 de composé **6**.

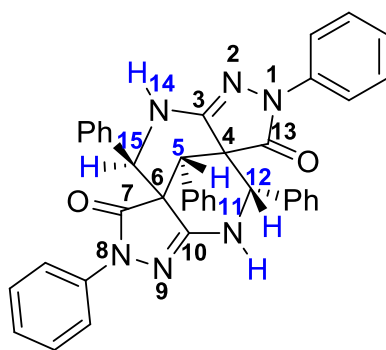
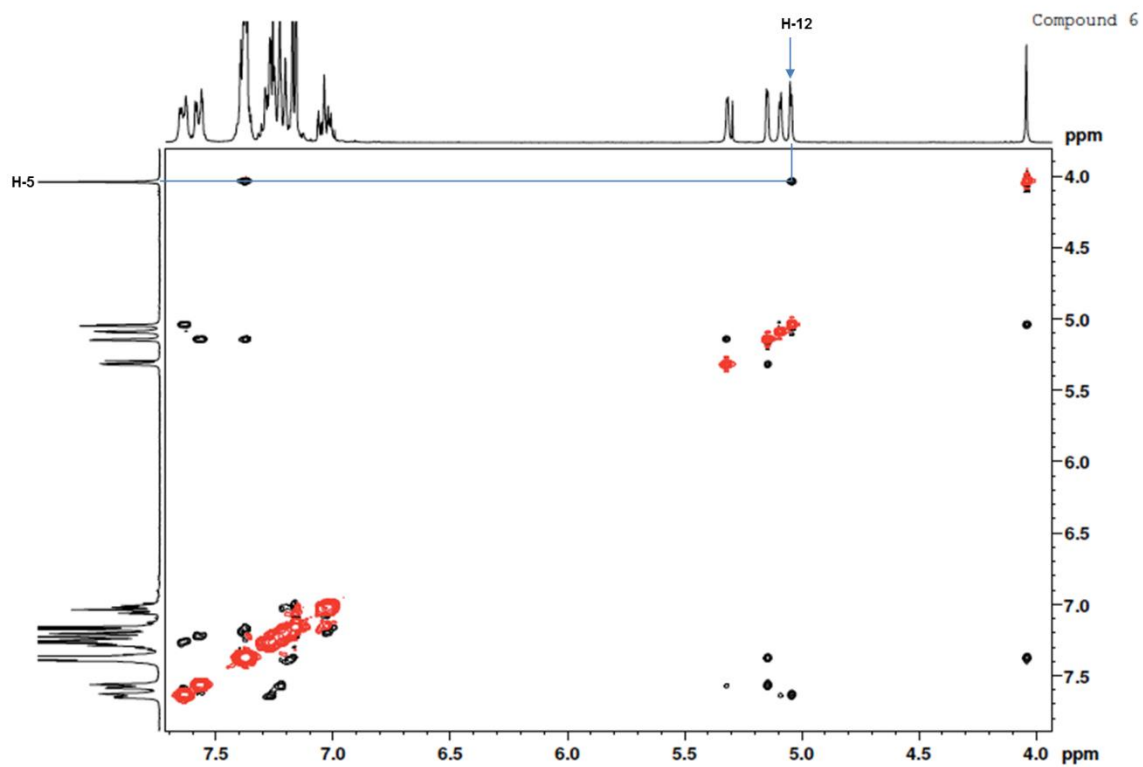


Schéma 38. Structure du composé **6**



. Figure 26. Spectre NOESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de composé 6.

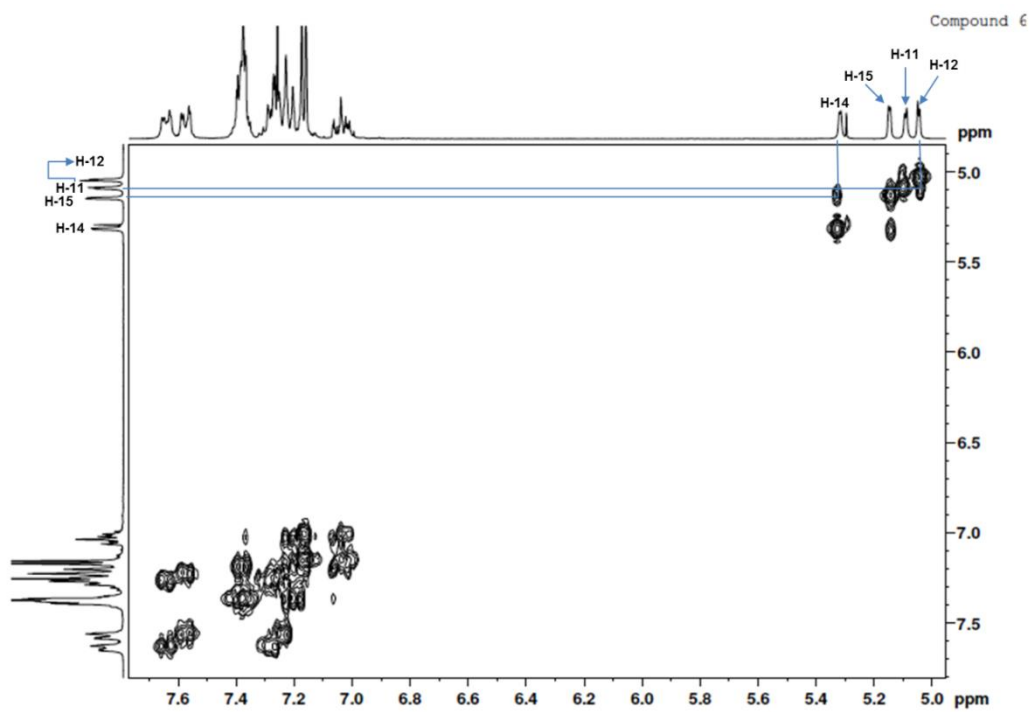


Figure 27. Spectre COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de composé 6.

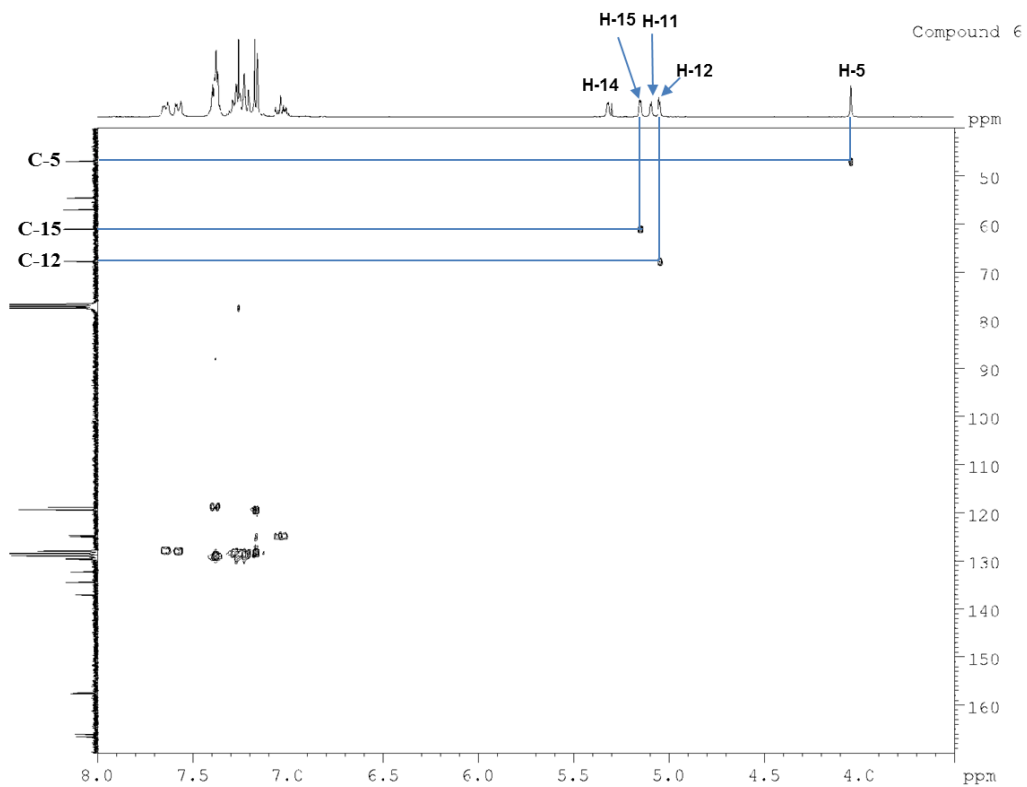


Figure 28. Spectre de HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de composé 6.

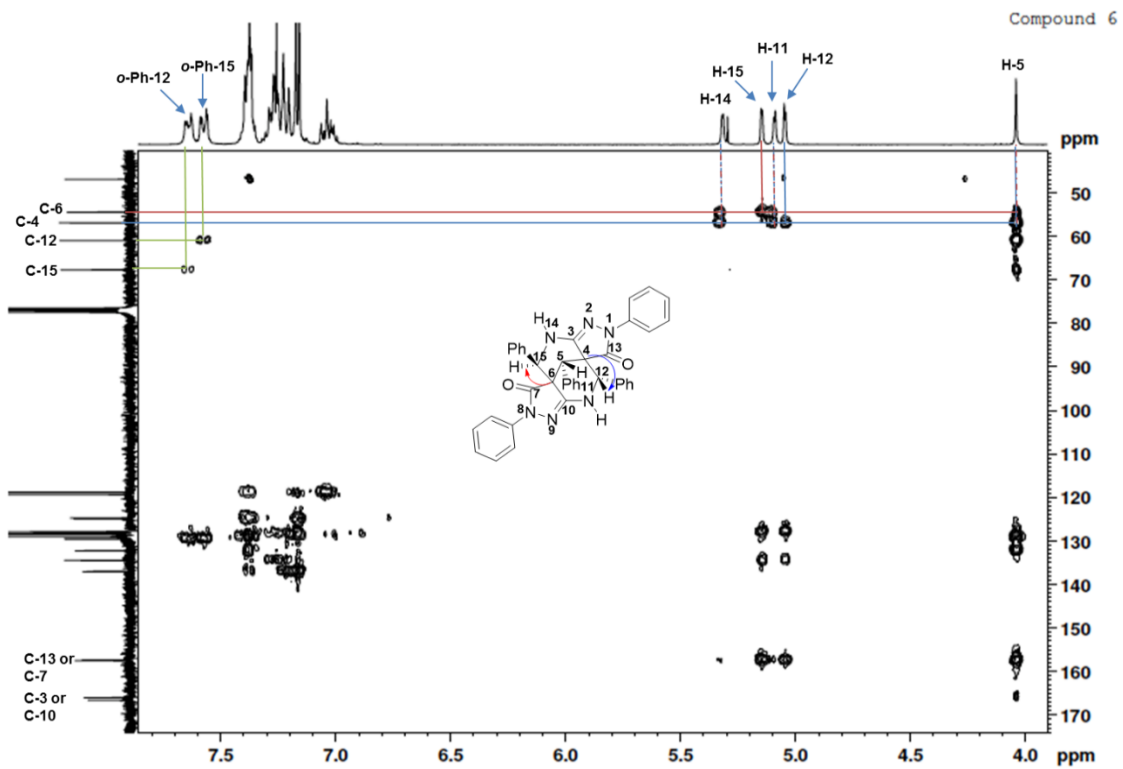


Figure 29. Spectre de HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de composé 6.

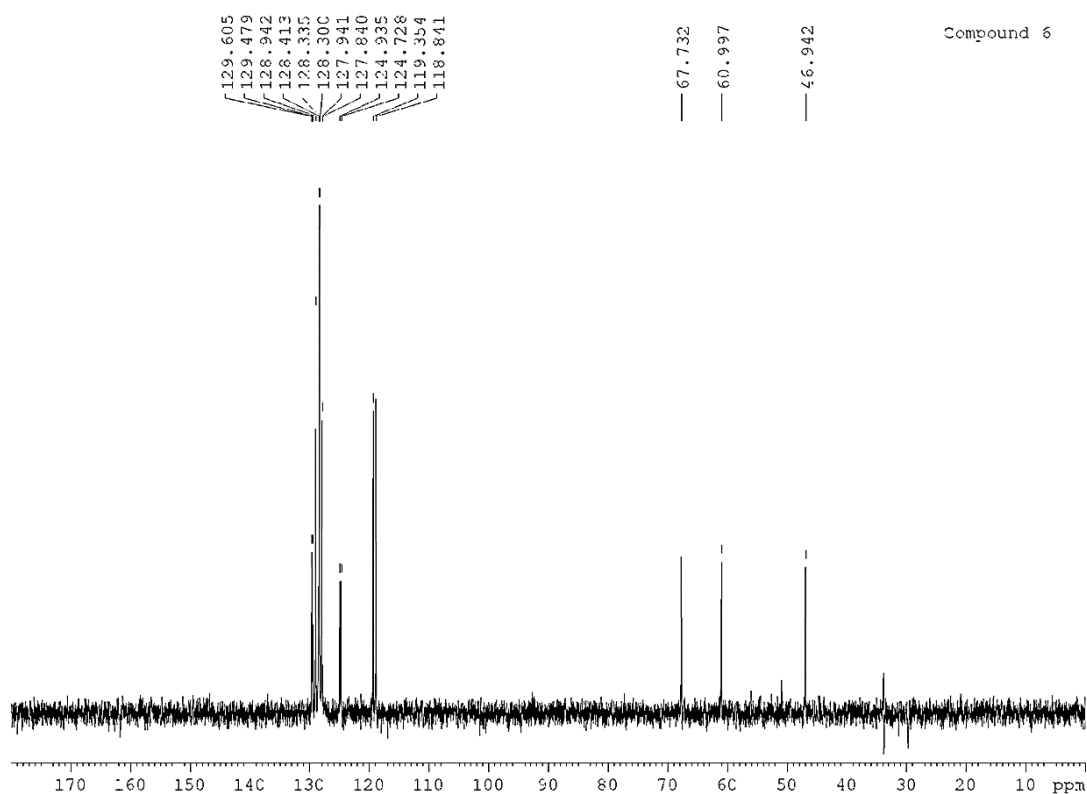


Figure 30. Spectre de DEPT-135 pris dans CDCl_3 du composé **6**.

II.2.3. Etude par Rayon X du composé **5**

L'identification des structures de ces nouveaux spiro composés a été facilitée par la cristallisation réussite de produit **5** à partir d'un mélange de chloroforme et d'acétone.

Le travail a débuté par la mise au point de conditions de cristallisation afin d'obtenir des monocristaux. La méthode utilisée est la cristallisation par évaporation lente qui consiste à dissoudre le produit dans un solvant, puis à laisser la solution s'évaporer lentement à température ambiante en prenant soin de minimiser tout phénomène qui pourrait perturber la cristallisation, telles que les vibrations.

La structure du composé **5** a été établie sans équivoque par diffraction des rayons X monocristallins.

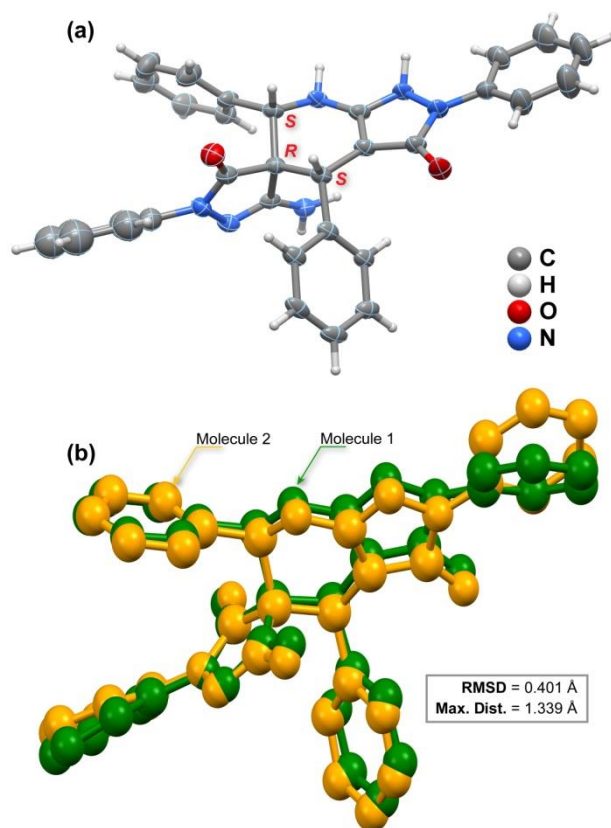


Figure 31. SchémaORTEP de composé **5**

II.2.4. Etude par Spectroscopie de Masse : masse électro spray (ESI-MS) des composés **5** et **6**

Les spectres de masse électrospray (ESI-MS) ou électro-pulvérisation de **5** et **6** montrent les attendus $[M + H]^+$ ions respectivement à m/z **527** et **615**, la différence de **88 Da** entre ces deux ions moléculaires est en accord avec la présence d'une unité de benzaldéhyde supplémentaire et l'absence d'une molécule d'eau dans le composé **6** (Figure 32 et 33).

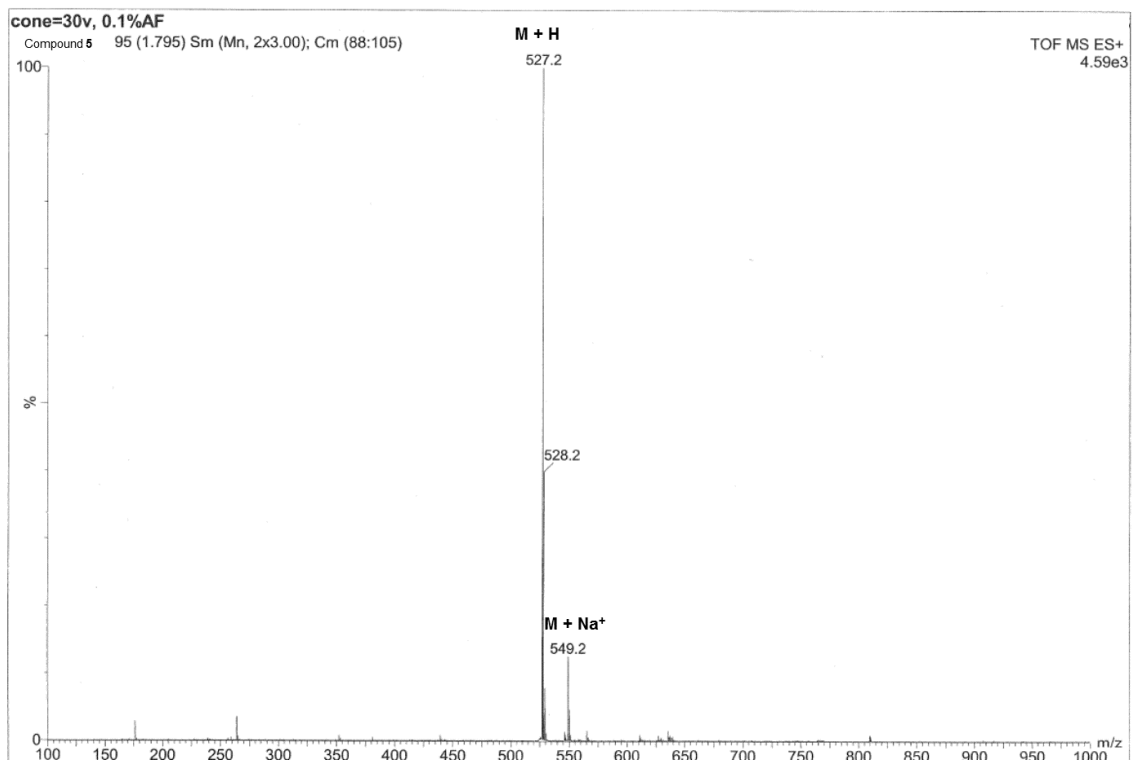


Figure 32. Spectre de masse électrospray (ESI-MS) du composé **5**

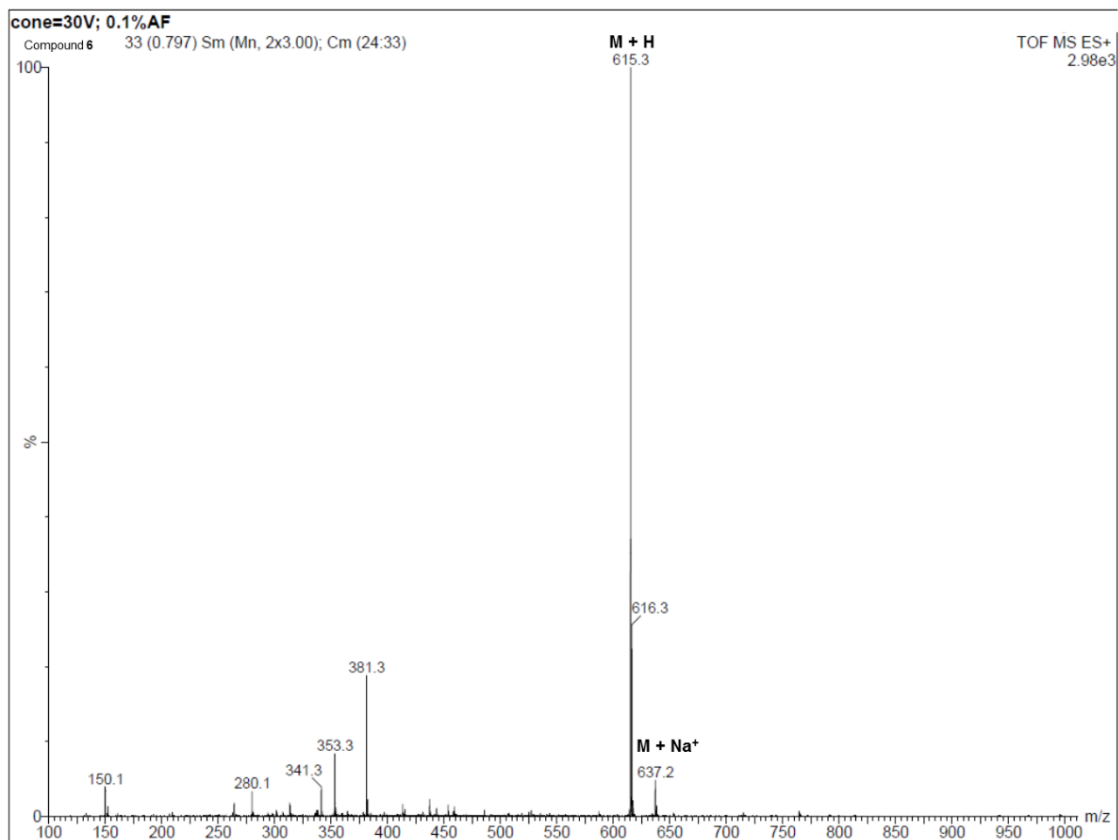


Figure 33. Spectre de masse électrospray (ESI-MS) du composé **6**

Pour confirmer ces résultats obtenus, nous avons fait réagir dans les mêmes conditions utilisées pour la réaction de Knoevenagel, le composé **5** avec 1,2 équivalent du benzaldéhyde en présence de la triéthylamine dans l'éthanol à reflux. La réaction a conduit au composé **6** attendu (schéma 39).

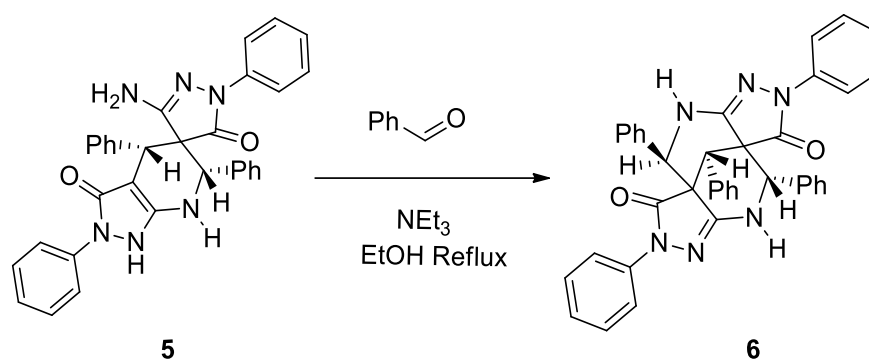


Schéma 39

II.2.5. Mécanisme proposé

D'un point de vue mécanistique, la réaction de 3-amino-1-phenylpyrazolin-5-one **1** et le benzaldéhyde selon les processus tandem de la condensation de Knoevenagel se déroule en cascade généralement en quatre étapes successives comme montré dans le schéma 40.

La formation du composé tricyclique **5** peut être justifiée selon un procédé en tandem représenté qui procédé par la condensation de type Knoevenagel attendue entre 3-amino-1-phenylpyrazolin-5-one **1** et benzaldéhyde conduisant au dérivé A, alpha et bêta insaturé (Schéma 40). Ensuite, l'addition de Michael impliquant la dimérisation de deux molécules de **A** donne le composé spiro tricycliques **5**.

Une autre condensation entre le groupement amine primaire du composé **5** avec une molécule supplémentaire de benzaldéhyde suivie d'une élimination d'une molécule d'eau peut expliquer la formation du composé tétracyclique **6**.

Cette dernière étape a été soutenue par la formation du composé **6** à partir de la réaction de **5** avec du benzaldéhyde en présence de la triéthylamine. (Schéma 40) comme c'est mentionné précédemment.

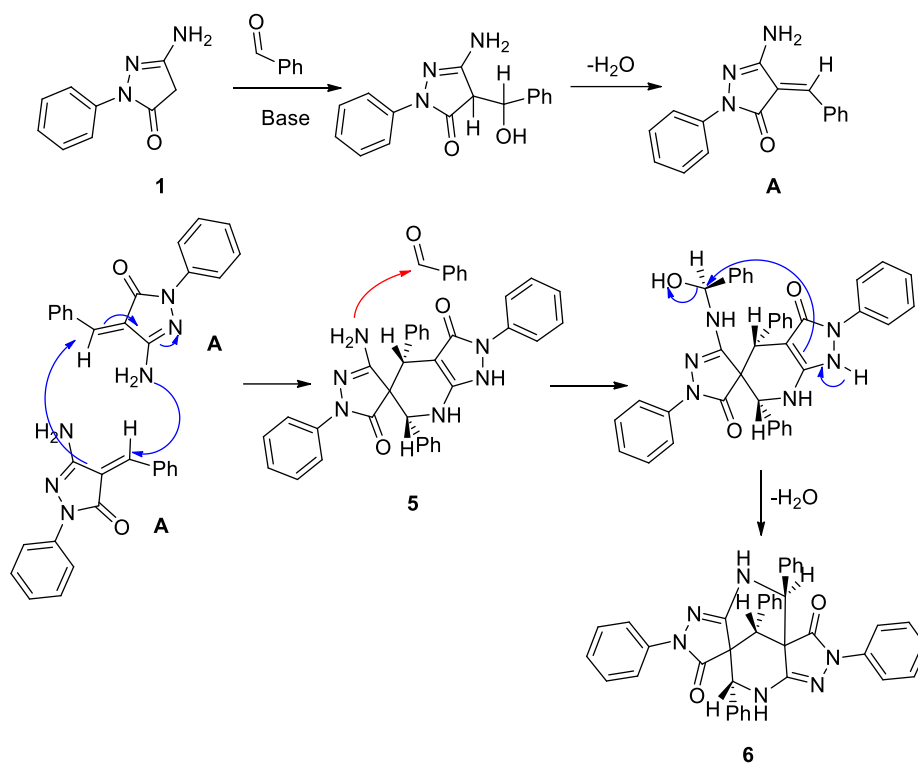


Schéma40.

III. Développement et application de la réaction tandem Knoevenagel Michael a la synthèse de nouvelles entités à structure spiro-pyrazolones

Après avoir optimisé les conditions opératoires nous avons généralisé la méthode afin de synthétiser de nouvelles molécules spiro hétérocycliques à partir de 3-amino-1-phényl-1-*H*-pyrazol-5-one **1** en utilisant différents aldéhydes.

Pour ce faire, divers aldéhydes ont été mis en réaction avec 3-amino-1-phényl-1-*H*-pyrazol-5-one **1**. Ces séquences ont permis d'isoler de nouveaux produits avec des bons rendements (Schème 41).

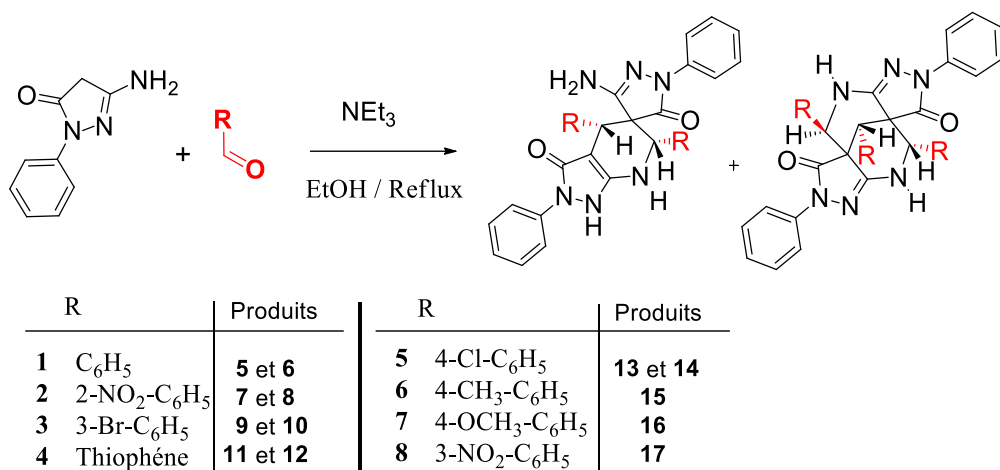
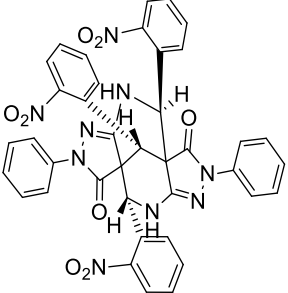
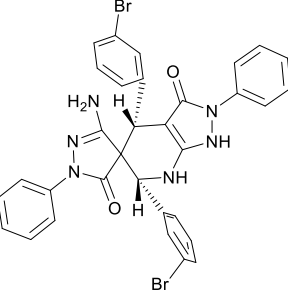
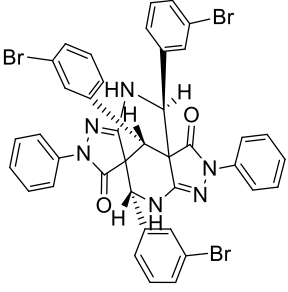
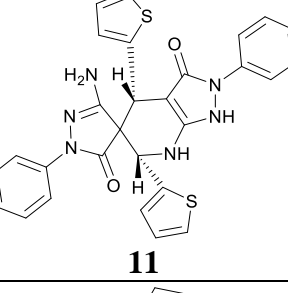
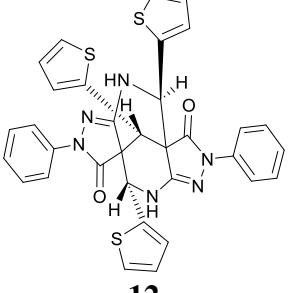


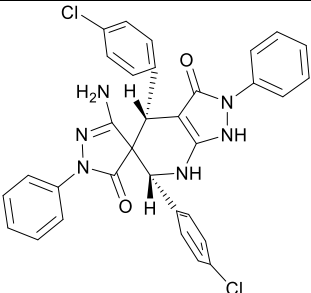
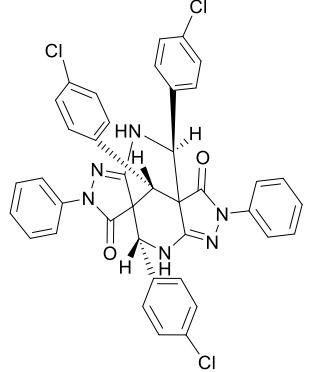
Schéma 41.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux 2 et 3 suivants :

Tableau 2 : Synthèses des nouveaux spiro-pyrazoles par réaction tandem Knoevenagel / Addition Michael / Knoevenagel.

Entrée	R	Produits	Rendement
1	C ₆ H ₅	<p>5</p>	36%
		<p>6</p>	60%
2	2-NO ₂ -C ₆ H ₅	<p>7</p>	30%

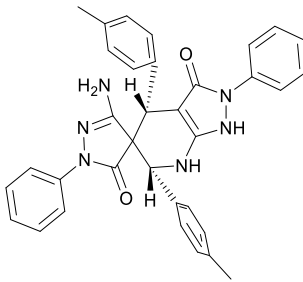
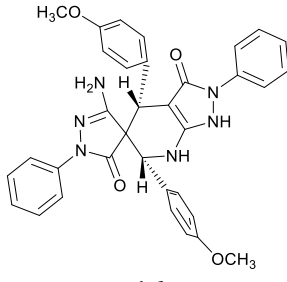
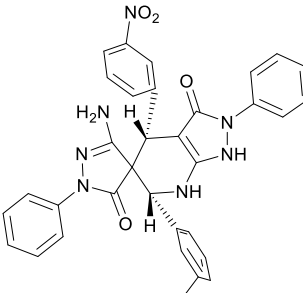
		 <p style="text-align: center;">8</p>	67%
3	3-Br-C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">9</p>	46%
		 <p style="text-align: center;">10</p>	50%
4	Thiophène	 <p style="text-align: center;">11</p>	44%
		 <p style="text-align: center;">12</p>	55%

5	4-Cl-C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">13</p>	45%
		 <p style="text-align: center;">14</p>	55%

✓ Si la réaction de synthèse des spirocycliques est conduite en utilisant le benzaldéhyde, 2-nitrobenzaldéhyde, 3-bromobenzaldéhyde, le thiophènecarboxaldéhyde ou le 4-chlorobenzaldéhyde (Entrées : **1**, **2**, **3**, **4**, **5**), la réaction impliquée est la condensation en tandem de Knoevenagel / addition Michael / Knoevenagel, où le groupe méthylène actif en position 4 de la 3-méthyl-5-pyrazolone réagit avec ces aldéhydes aromatiques pour former les deux composés spiropyrazoliques (tableau 2).

✓ Alors que si la réaction est faite avec les aldéhydes 4-méthylbenzaldehyde, 4-méthoxybenzaldehyde, 3-nitrobenzaldehyde (Entrées : **6**, **7**, et **8**), la réaction impliquée est la condensation en tandem de Knoevenagel / addition Michael où le groupe méthylène actif en position 4 de la 3-méthyl-5-pyrazolone réagit avec les aldéhydes aromatiques pour former uniquement le produit tricyclique (tableau 3).

Tableau 3 : Synthèses des nouveaux spiropyrazoles par réaction tandem Knoevenagel / Addition Michael.

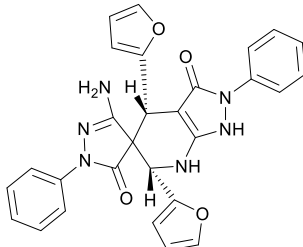
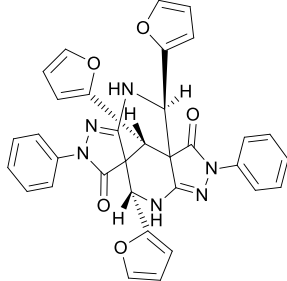
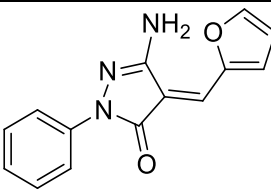
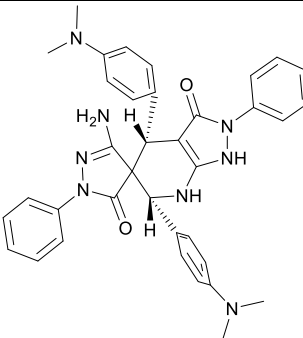
Entrée	R	Produits	Rendement
6	4-CH ₃ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">15</p>	92%
7	4-OCH ₃ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">16</p>	95%
8	3-NO ₂ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">17</p>	96%

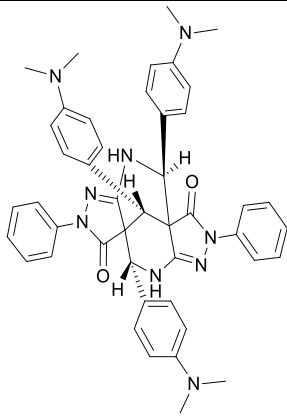
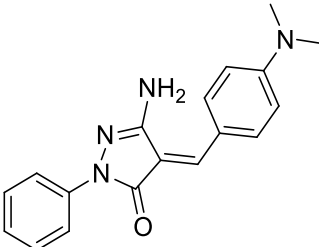
En outre, nous remarquons que la position des substituants aromatiques de l'aldéhyde utilisé peut influencer la réaction, on observe que le 2-nitrobenzaldehyde conduit à la formation des deux composés spiropyrazoliques alors que le 3-nitrobenzaldehyde conduit à la formation d'un seul composé spiro.

De plus, la réaction semble sensible à la nature de l'hétéroatome de l'aldéhyde, on observe que la réaction avec le thiophén-2-carboxaldéhyde engendre la formation de deux composés spiropyrazoliques.

Par contre, la réaction faite avec le furfural engendre en plus le troisième produit correspondant à l'imine, et d'une manière similaire, engendre la formation de deux composés spiropyrazoliques plus l'imine (tableau 4).

Tableau 4 : Synthèse des nouveaux spiropyrazoliques par des aldéhydes portant des hétérocycles aromatiques

Entrée	R	Produits	Rendement
9	Furane	 <p>18</p>	35%
		 <p>19</p>	45%
		 <p>20</p>	20%
10	4-N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	 <p>21</p>	36%

		 <p style="text-align: center;">22</p>	48%
		 <p style="text-align: center;">23</p>	15%

En collaboration avec l'équipe du Pr. Cavaleiro de l'Université d'Aveiro-Portugal, le Professeur M.A.F. Faustino a étudié la réaction de condensation, de la 3-amino-1-phényl-1H-pyrazol-5-one **1** sur une fonction aldéhyde greffée sur une porphyrine **42.11**, en utilisant les mêmes conditions décrites précédemment de Knoevenagel.

Le seul produit obtenu est l'imine **24**, correspondant au produit classique de la réaction de condensation de Knoevenagel, et contrairement à nos résultats obtenus avec les autres aldéhydes (schéma 42).

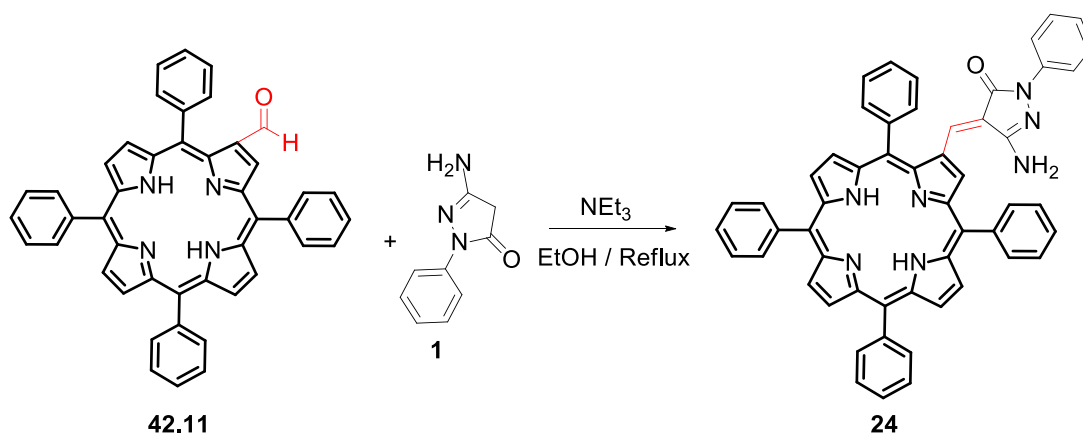


Schéma 42

IV. Synthèse de nouveaux spiro pyrazoles avec deux aldéhydes différents

Dans l'objectif de synthétiser de nouveaux composés spiro, en utilisant deux aldéhydes différents, nous avons envisagé d'introduire une molécule d'un autre aldéhyde dans la structure du composé résultant de la condensation de méthoxybenzaldéhyde (entrée 5) avec l'aminopyrazol **1**.

Nous avons réalisé la condensation de composé **16** avec différents aldéhydes selon la condensation de Knoevenagel (schéma 43)

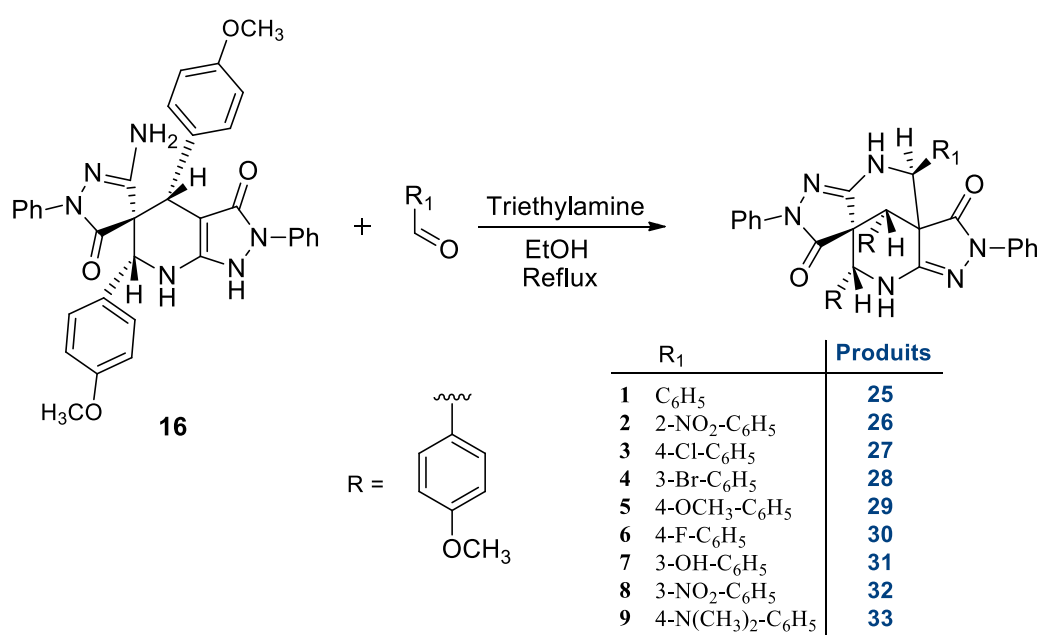
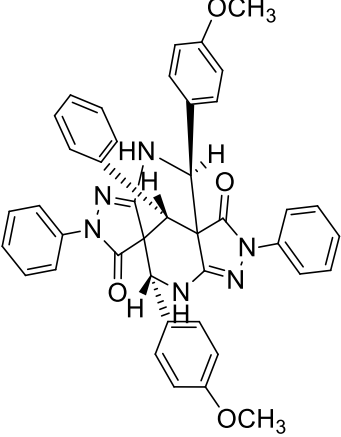
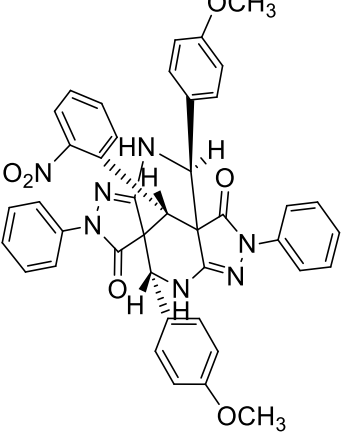
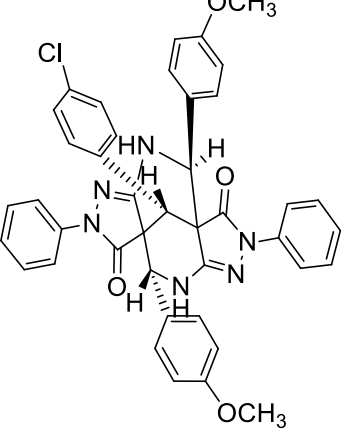
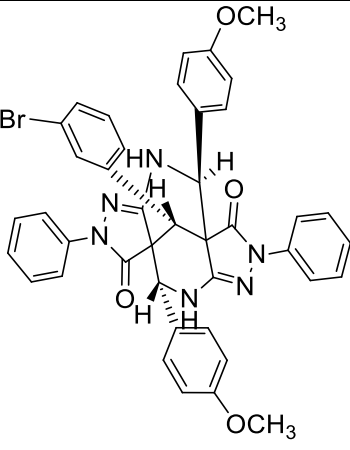
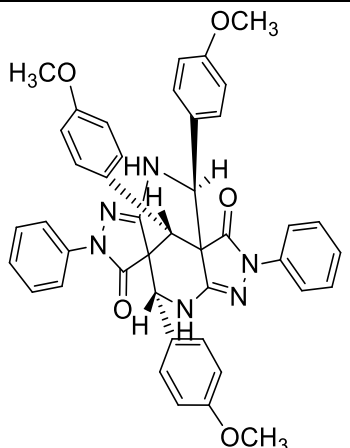
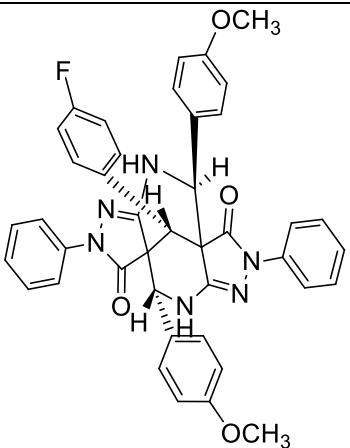
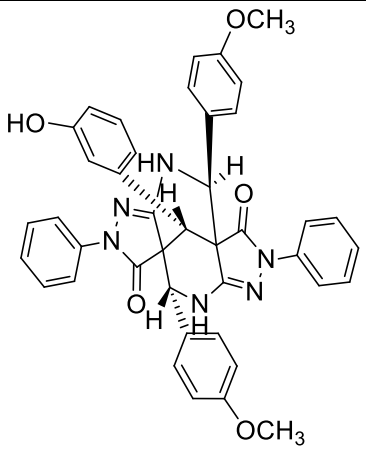
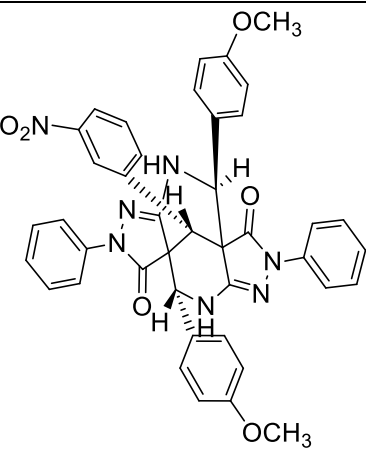
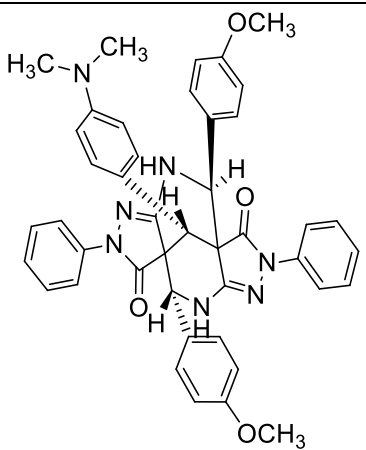


Schéma 43

Tableau 5. Les structures des produits obtenus par condensation du composé **16** sur différents aldéhydes

Entrée	R	Produit	Rendement
1	C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">25</p>	70%
2	2-NO ₂ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">26</p>	60%
3	4-Cl-C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">27</p>	75%

<p>4</p>	<p>3-Br-C₆H₅</p>	 <p>28</p>	<p>70%</p>
<p>5</p>	<p>4-OCH₃-C₆H₅</p>	 <p>29</p>	<p>86%</p>
<p>6</p>	<p>4-F-C₆H₅</p>	 <p>30</p>	<p>65%</p>

7	3-OH- C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">31</p>	80%
8	3-NO ₂ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">32</p>	75%
9	4-N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">33</p>	60%

V. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons pu synthétiser de nouvelles structures de composés spiro par une méthode classique et simple. Cette voie nous a permis d'ajouter un nouveau squelette spiro-pyrazolique à la chimiothèque des squelettes hétérocycliques préparés à partir de synthon 5-amino-3-méthyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole **1**.

La méthode de synthèse, que nous avons adoptée, pour préparer ces hétérocycles, met en jeu les réactions tandems de Knoevenagel et l'addition de Michael.

En résumé, les nouveaux composés spiro inattendus contenant des squelettes pyrazolique ont été facilement obtenus à partir de la réaction du 3-amino-1-phenylpyrazolin-5-one **1** avec l'aldéhyde en présence de la base triéthylamine. Ils ont été caractérisés par les techniques spectroscopiques connues (RMN ¹H, RMN ¹³C).

Chapitre III :

Evaluation de l'activité bactérienne des dérivés spiro-pyrazoliques.

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité pharmacologique des nouveaux composés spiro pyrazoliques synthétisés. Les tests ont été réalisés au laboratoire de recherche de microbiologie du département de biologie (Université Aveiro du Portugal), suite à la collaboration avec les professeurs Maria Amparo Ferreira Faustino et Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves.

I. L'activité antibactérienne

L'activité bactérienne est réalisée sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec la méthode des disques sur milieu solide décrite par Kirby Bauer et al.⁸³

I.1. Matériels

a. Souches bactériennes

***Staphylococcus aureus* (*S.aureus*):** Ce germe est présent en saprophyte dans le milieu extérieur (eau, sol, air) et en commensale sur la peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux. Il peut être responsable d'infections locales telles que des infections cutanées ou généralisées comme des septicémies. Une infection à *S. aureus* peut se produire lors d'une baisse des défenses immunitaires de l'hôte ou lors d'une rupture de la barrière physique de la peau. Cette bactérie peut être la cause de plusieurs maladies. Par exemple, elle peut causer des infections cutanées, comme un impétigo si l'infection est superficielle ou un abcès si elle est plus profonde. Elle est l'agent causal numéro un des ostéites, d'où l'importance de la contrôler lors de la surinfection de plaies chroniques. Cette bactérie peut aussi surinfecter les plaies négligées et est souvent la cause d'infections nosocomiales.⁸⁴

***Pseudomonas aeruginosa*:** Son nom signifie « pue bleu » en raison de la production de pyocyanine. Ces bactéries sont largement répandues dans l'environnement, elles vivent en saprophyte dans le sol et l'eau. Elles peuvent se rencontrer chez l'homme au niveau des flores commensales.

⁸³A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Turck. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, 45,493.

⁸⁴ a) E. Olivares, S. Badel-Berchoux, C. Provot, B. Jaulhac, G. Prévost, T. Bernardi, F. Jehl. *Front. Microbiol.* **2017**, 8, 1289. b) F. D. Lowy. *New.Engl. J. Med.* **1998**, 339, 520.

L'espèce *P. aeruginosa* intervient fréquemment comme pathogène opportuniste et est responsable d'infections nosocomiales de plus en plus graves et fréquentes. Elle entraîne dans les organismes affaiblis des infections diverses, voire une septicémie.

b. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour l'expérimentation de dénombrement bactérien sont :

Gélose Tryptic-Soy-Agar (TSA) Ce milieu a été le plus utilisé pendant les expérimentations (dénombrement) et il a servi pour le repiquage et l'ensemencement. La composition du milieu dans un litre d'eau est :

- 15 g de tryptone (caséine digérée) ;
- 5 g de Soytone (soja digéré) ;
- 5 g de Chlorure de sodium (NaCl) ;
- 15 g d'agar-agar.

Bouillon nutritif tryptones-soja (TSB) : Afin d'obtenir une croissance bactérienne liquide pour réaliser les expérimentations, il faut utiliser le TSB. C'est un bouillon de base composé de tryptones et de soja qui est nutritif et qui permet la bonne croissance des bactéries. Le bouillon contient (pour un litre d'eau) :

- 17 g de tryptone (caséine digérée) ;
- 3 g de Soytone (soja digéré) ;
- 2,5 g de glucose ;
- 5 g de chlorure de sodium (NaCl) ;
- 2,5 g de phosphate dipotassique.

Sa composition ressemble en fait à la gélose TSA décrite ci-dessus.

c. Les composés spiropyrazoliques

Nous avons choisi quatre spiropyrazoles pour les tests préliminaires.

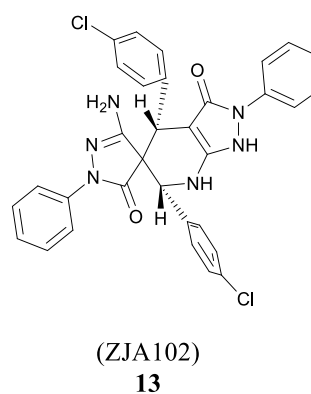
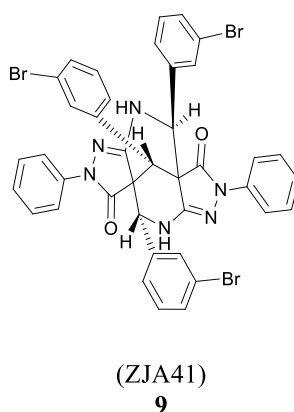
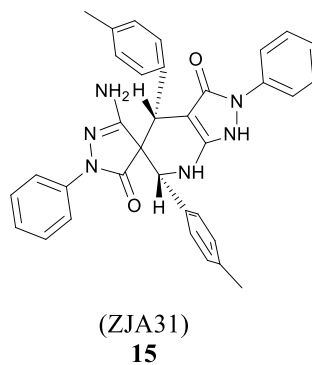
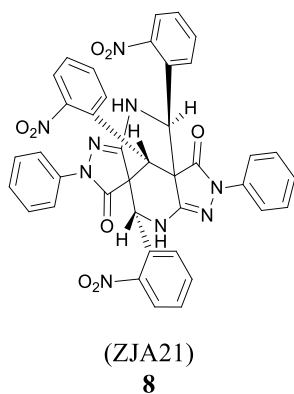


Schéma 44

I.2. Méthodes

a. Méthode en milieu solide

Elle est très sollicitée en bactériologie médicale, appelée aussi antibiogramme ou méthode de disques. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement utilisée il y a plus d'une cinquantaine d'années.

b. Méthode des disques en milieu solide de Kirby-Bauer

Cette technique consiste à utiliser des disques en papier qui sont imprégnés de différents produits à tester. Ils sont mis à la surface d'une gélose uniformément semencée avec la suspension de la bactérie à analyser. Chaque produit diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration.

Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe

ainsi autour des disques une zone circulaire qui ressemble à une colonie, appelée zone d'inhibition.

Plus le diamètre de ce dernier est grand plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus le diamètre est petit plus la bactérie est résistante. Elle permet une bonne estimation du pouvoir antimicrobien, surtout pour les produits ayant une bonne diffusion dans le milieu solide.

- **L'inoculum : Méthode standard de Kirby et Bauer**

- L'antibiogramme doit être pratiqué à partir d'une souche pure ;
- Repiquer 4 à 5 colonies sur un bouillon approprié : bouillon caséine-soja (BK046, BM030);
- Mettre à l'étuve à 37°C (2 à 5 heures en général) jusqu'à obtention d'une opacité correspondant à l'opacité standard d'une suspension de sulfate de baryum (densité 0,5 de l'échelle de MacFarland).

- **L'ensemencement : Méthode standard de Kirby et Bauer**

- Après avoir introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum ajusté au témoin d'opacité standard, rejeter l'excès de bouillon par pression sur les parois du tube. Ensemencer la gélose. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène;
- Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

II. Évaluation de l'activité antibactérienne des composés spiropyrazoliques

II.1. Mode opératoire

Une culture d'une nuit de *S. aureus* dans du bouillon de soja trypsique (TSB) a été inoculée à la surface de la gélose Tryptic Soy Agar (TSA) avec un écouvillon stérile. Des disques imprégnés de solutions de DMSO 100 mM des composés à tester ont été placés sur la surface du milieu inoculé. Un disque vierge imprégné de DMSO a été utilisé comme témoin négatif. Des disques commerciaux contenant 10 µg de chloramphénicol ont été inclus comme contrôles positifs. Les composés et les témoins ont été testés dans des boîtes de pétrie indépendantes en triple exemplaire. Les cultures ont été incubées pendant 24h à 37°C.

II.2. Résultats

Pour la souche bactérienne *S. aureus* nous avons testé leurs sensibilités aux composés **8** (ZJA21), **15** (ZJA31) et **9** (ZJA41), (Figure 34).

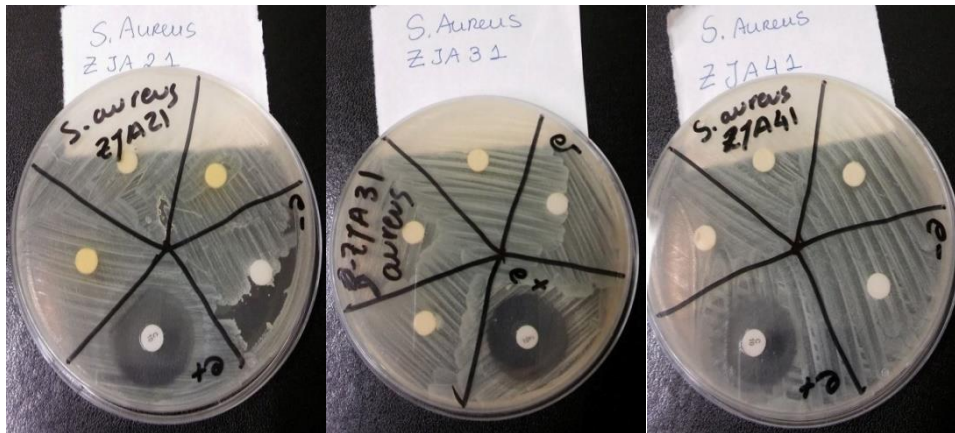


Figure 34. Antibiogramme de trois Spiropyrazoles sur la croissance de *S. aureus* selon la méthode Kirby-Bauer avec disques

Lors de l'évaluation de l'effet des trois Spiropyrazoles par la technique de diffusion sur disque, aucune inhibition n'est observée (Figure 35). En effet, aucun halo stérile n'est présent au pourtour des disques contenant la solution de spiropyrazole au contraire de témoin positif utilisé.

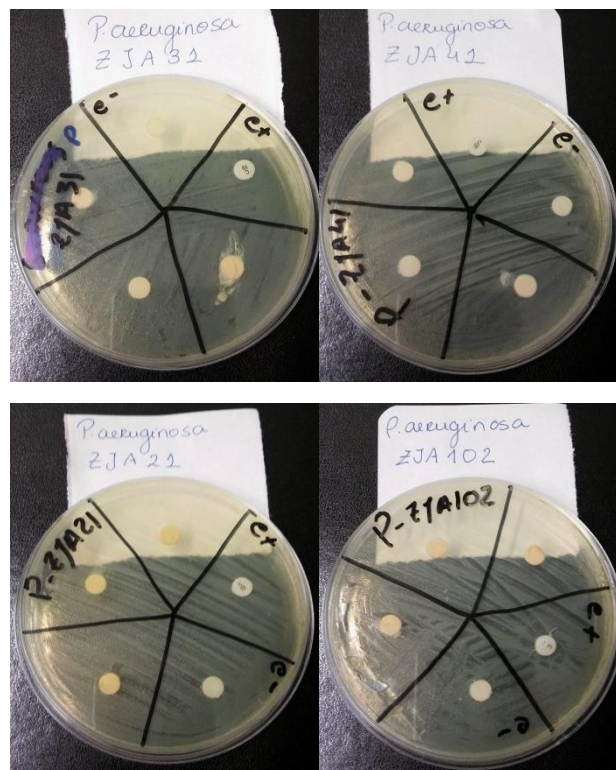


Figure 35 : Antibiogramme de quatre Spiropyrazoles sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* selon la méthode Kirby-Bauer avec disques.

Pour la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* nous avons testé leurs sensibilités aux composés **8** (ZJA21), **15** (ZJA31), **9** (ZJA41) et **13** (ZJA102). Malheureusement aucun des quatre composés spiropyrazoliques utilisés n'a permis une inhibition complète de la croissance bactérienne (figure 35).

II.3. Conclusion

L'activité antibactérienne des composés spiropyrazoliques a été évaluée sur une souche bactérienne gram-positif : *S. aureus*, et une souche gram-négative : *Pseudomonas aeruginosa* à l'aide de la méthode de diffusion du disque de Kirby et Bauer.

Les résultats obtenus montrent que les composés spiro sont inactifs sur la souche de *S. aureus* et de *P. Aeruginosa*, Par conséquent nous avons pensé à tester l'effet de ces composés sur *Quorum sensing* par la suite.

III. *Quorum sensing*

III.1. Origine et découverte

Les bactéries ont longtemps été considérées comme des organismes avec une faible capacité d'interagir entre elles. C'est seulement au début des années 1970 que cette notion a été contestée avec la découverte et la description d'un système de communication chez la bactérie marine *Vibrio fischeri*^{85,86,87} actuellement connu sous le nom de *quorum sensing* (QS). Cette expression a été introduite la première fois par Fuqua et Winans en 1994.⁸⁸

III.2. Définition

Le *quorum sensing* (QS) est un mode de communication intra et inter espèces bactériennes qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées **auto-inducteurs**, produites au cours de la croissance bactérienne.

Lorsque la concentration des autoinducteurs atteint un seuil critique dans le milieu, ceux-ci pénètrent dans la cellule et interagissent avec un régulateur transcriptionnel qui permet l'expression de gènes spécifiques en réponse à la forte concentration de cet autoinducteur.^{89,90}

⁸⁵ K. H. Nealson, T. Platt, J. W. Hastings. *J. Bact.* **1970**, *104*, 313.

⁸⁶ K. H. Nealson, J. W. Hastings. *Microb. Rev.* **1979**, *43*, 496.

⁸⁷ S. Raina, D. De Vizio, M. Odell, M. Clements, S. Vanhulle, T. Keshavarz. *Biot. App. Bio. Chem.* **2009**, *54*, 65.

⁸⁸ W. C. Fuqua, S. C. Winans. *J. Bact.* **1994**, *176*, 2796.

⁸⁹ R. Czajkowski, S. Jafra. *Acta. Bio. Chim. Pol.* **2009**, *56*, 1.

III.3. Notion d'auto-inducteurs

Les autoinducteurs sont des petites molécules de signal chimique, diffusibles et produites par les bactéries qui possèdent un système de régulation de type QS. Leur concentration externe augmente en fonction de la densité cellulaire.

La concentration seuil des autoinducteurs est détectée comme un signal par les bactéries, qui en réponse expriment certains gènes et donc certains phénotypes ou comportements bactériens.⁹¹ Ce système signal-réponse va permettre aux bactéries de synchroniser leur comportement et d'agir comme des organismes multicellulaires.⁹²

La notion d'autoinducteur a été introduite la première fois par Kaplan et Greenberg en 1985,⁹³ dans le modèle de régulation de la luminescence chez *V. fischeri*. Les autoinducteurs sont généralement produits par une protéine homologue de LuxI de *V. fischeri*.⁹⁴ Les autoinducteurs du QS sont spécifiques au type de Gram des bactéries et à chaque espèce.

III.4. Mécanisme du QS chez les bactéries

Le système QS est rencontré à la fois chez les bactéries Gram négatif et positif,⁹⁵ chez les bactéries Gram négatif, il implique la sécrétion de petites molécules dérivées d'acides gras, alors que chez les bactéries Gram positif, il est basé sur la production de dérivés peptidiques.⁹⁶ Trois composants majeurs sont impliqués dans le mécanisme du QS chez les bactéries. Il s'agit de l'autoinducteur et d'un couple de protéines, dont une synthase et un récepteur.⁹⁷ Le QS est à l'origine de l'expression de plusieurs types de gènes en l'occurrence les gènes codant pour l'émission de la bioluminescence, la sporulation, la compétence, la production d'antibiotique, la sécrétion de facteurs de virulences, la production de pigments et la formation de biofilm.⁹⁸

En 1970, Nealson et *al.*⁹⁹ ont découvert et décrit le premier système QS chez la bactérie marine *Vibrio fischeri*.

⁹⁰ C. M. Waters, B. L. Bassler. *Rev. Cel. Devel.Bio.* **2005**, 21, 319.

⁹¹ J. M. Henke, B. L. Bassler. *Tren. Cel. Bio.* **2004**, 14, 648.

⁹² a) B. L. Bassler. *Curr.Opin.Microbiol.* **1999**, 2, 582. b) C. M. Waters, B. L. Bassler. *Revi.Cel.Devel.Bio.* **2005**, 21, 319.

⁹³ H. B. Kaplan, E. P. Greenberg. *J. Bacterio.* **1985**, 163, 1210.

⁹⁴ G. P. C. Salmond, B. W. Bycroft, G. S. A. B. Stewart, P. Williams. *Mol. Microbio.* **1995**, 16, 615.

⁹⁵ C. T. Parker, V. Sperandio. *Cel.Microb.* **2009**, 11, 363.

⁹⁶ R. Czajkowski, S. Jafra. *Act. Bioch.Polo.* **2009**, 56, 1.

⁹⁷ C. M. Waters, B. L. Bassler. *Rev. Cel. Devel.Bio.* **2005**, 21, 319-346.

⁹⁸ S. T. Rutherford, B. L. Bassler. *Col. Spring, Harb. Perspect.Med.* **2012**. 2. a012427

⁹⁹ K. H. Nealson, T. Platt, J. W. Hastings. *J. Bacterio.* **1970**, 104, 313.

V. fischeri **B** est une bactérie marine qui vit en symbiose avec le calmar hawaïen *Euprymna scolopes* **A** et le poisson pomme de pin *Monocentris japonica* **C** (Figures 36A, 36B et 36C).

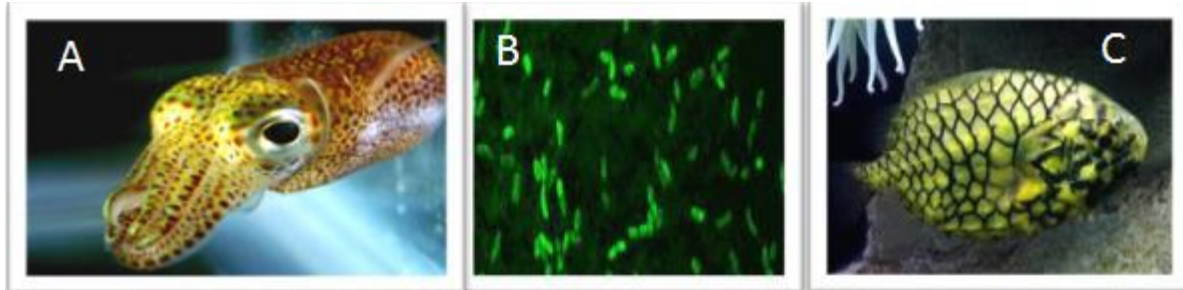


Figure 36 : Exemple de bioluminescence symbiotique entre:
(A) le calmar de l’océan pacifique *Euprymna scolopes* **(B)** *V. fischeri* et
(C) le poisson pomme de pin *Monocentris japonica*.

Le système QS décrit chez *V. fischeri*, basé sur l’émission de la bioluminescence est considéré comme le paradigme du QS chez la plupart des bactéries Gram négatif. Le mécanisme QS le plus décrit est celui des bactéries Gram négatif. Il implique la production et la réponse à de petites molécules inductrices appartenant à la famille des AHLs (Figure 37).¹⁰⁰

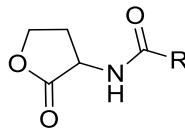


Figure 37 : Structure générale d’une Acyl Homosérine Lactones (AHL).

Les AHLs sont synthétisées par une protéine homologue de LuxI et sortent des cellules par simple diffusion pour les courtes chaînes d’AHLs ou par transport actif pour les longues chaînes.

Lorsque leur concentration atteint un seuil critique, elles entrent dans les cellules et se fixent à un récepteur homologue de LuxR.

Le complexe AHL-LuxR active la transcription de gènes spécifiques.¹⁰¹ Selon certains auteurs, il existerait une grande spécificité entre les récepteurs et leurs AHLs

¹⁰⁰ C. Fuqua, E. P. Greenberg. *Mol. Cell. Biol.* **2002**, 3, 685.

¹⁰¹ W. C. Fuqua, S. C. Winans. *J. Bact.* **1994**, 176, 2796.

apparentées.¹⁰²En absence d’AHL, le récepteur de type LuxR se dégrade rapidement. Inversement, la fixation de l’AHL au récepteur stabilise celui-ci contre la protéolyse.¹⁰³

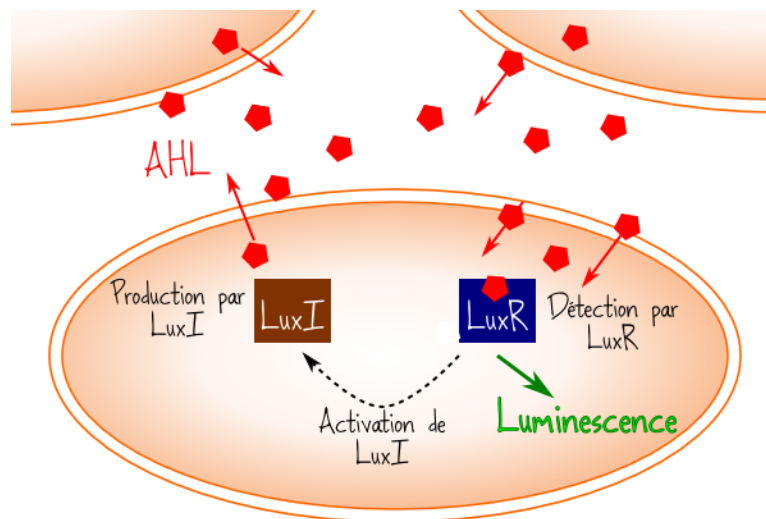


Figure 38 : Mécanisme du QS chez *V. fischeri*

III.5. Inhibition du *Quorum Sensing*

L’inhibition du *quorum sensing*(QS), aussi appelé *quorum quenching*(QQ),¹⁰⁴est une nouvelle approche de lutte contre les infections et les biofilms bactériens dans le domaine marin et médical.¹⁰⁵ La perturbation du QS serait une bonne alternative pour limiter le développement bactérien.¹⁰⁶

Chez les bactéries Gram négatif, trois différentes cibles sont impliquées dans l’inhibition du QS. Il s’agit du signal, généralement les AHLs, du récepteur et de la synthèse. La stratégie d’inhibition du QS consisterait à :

- dégrader l’AHL par des méthodes métaboliques, chimiques ou enzymatiques ;
- bloquer le site de fixation de l’AHL au niveau du récepteur ;
- empêcher la synthase de synthétiser l’AHL.

Le composant QS le plus ciblé dans les stratégies d’inhibition du QS est le récepteur, car en empêchant l’AHL de se lier au récepteur, celui-ci ne pourra pas agir en tant que régulateur transcriptionnel. Les molécules QSIs peuvent être soit naturelles, sécrétées par des

¹⁰² B. L. Bassler. *Cell*. **2002**, 109, 421.

¹⁰³ S. Dobretsov, M. Teplitski, V. Paul. *Biofoul*. **2009**, 25, 413.

¹⁰⁴ S. Uroz, Y. Dessaux, P. Oger. *Chem. Bio. Chem.* **2009**, 10, 205.

¹⁰⁵ T. B. Rasmussen, M. Givskov. *Int. J. Med. Microbiol.* **2006**, 296, 149.

¹⁰⁶ G. D. Geske, R.J. Wezeman, A. P. Siegel, H. E. Blackwell. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12762.

organismes vivants tels que les bactéries, les champignons, les algues, les éponges ainsi que les plantes et les animaux, soit chimiquement synthétisés.¹⁰⁷

III.6. Bactéries biosenseurs

Certaines bactéries permettent la détection phénotypique d'un système QS actif. Ces bactéries sont appelées biosenseurs, car elles permettent une détection sensible et quantitative des signaux du QS tels que les AHLs.

Parmi les biosenseurs, il existe des bactéries pour lesquelles le phénotype détectable est naturellement présent et est connu pour être sous la dépendance du QS. C'est le cas de la production de violacéine chez *C. violaceum* ATCC12472 et l'émission de la bioluminescence chez *V. fischeri* ES114. Ces souches bactériennes sont donc utilisées comme biosenseurs pour la détection de l'AHL.¹⁰⁸

IV. Évaluation de l'Inhibition du *Quorum Sensing* (QSI) antibactérienne des spirocycles

IV.1. Matériels et méthodes

a. *Chromobacterium violaceum*

Chromobacterium violaceum est une bactérie Gram négatif communément trouvée dans l'eau et dans le sol. La souche sauvage *C. violaceum* ATCC 12472 produit la C6-HSL (AHL) qui régule la production d'une variété de facteurs notamment la violacéine, des antibiotiques, le cyanure d'hydrogène, des exoprotéases, la chitinas¹⁰⁹ (Figure 39A). Elle est généralement utilisée dans les bio-essais d'inhibition du QS.¹¹⁰

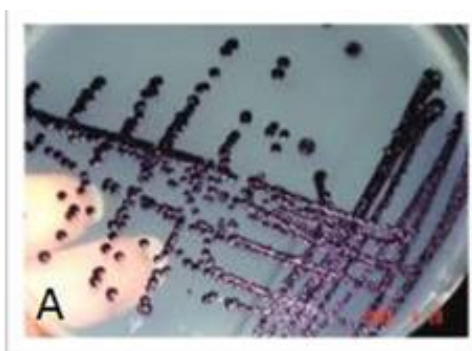


Figure 39 : QS chez *C. violaceum*.
(A) colonies violettes de *C. violaceum* ATCC 12472.

¹⁰⁷ V. C. Kalia. *Biot. Adv.* **2013**,31, 224-245.

¹⁰⁸ J. Zhu, Y. Chai, Z. Zhong, S. Li, S. C. Winans. *App. Env. Micro.* **2003**, 69, 6949.

¹⁰⁹ T. Morohoshi, M. Kato, K. Fukamachi, N. Kato, T. Ikeda. *FEMS. Micro. Lett.* **2008**, 279, 124.

¹¹⁰ R. J. C. McLean, L. S. Pierson III, C. Fuqua. *J. Micro. Meth.* **2004**, 58, 351.

b. *Luria Bertani broth (LB) ou LB agar*

Le milieu LB est un milieu nutritif commercial, généralement utilisé pour la croissance des souches non marines ou pathogènes. C'est un milieu non tamponné qui a un pH de 7,2 après autoclavage. Dans cette étude, il a servi à faire pousser tous les biosenseurs. Afin de maintenir stable le pH, le milieu LB a dans certains cas été tamponné à l'aide du tampon acide 4-morpholinepropanesulfonique (MOPS) (Fisher Bioreagents). Sa composition chimique est comme suit : NaCl 5,0g/L, Tryptone 10,0g/L, Extrait de levure 5,0g/L.

IV.2. Techniques de mise en évidence de l'activité QS des biosenseurs

Différentes techniques ont été décrites dans la littérature, permettant de mettre en évidence ou de quantifier l'activité des biosenseurs. Il s'agit des stries croisées (stries en forme de T-) sur plaque, du recouvrement de la plaque de chromatographie sur couche mince (CCM) et de la quantification de l'activité de la β -galactosidase, de la production de luminescence, de la fluorescence ou encore de la violacéine.¹¹¹

Dans la technique des stries croisées, la souche d'essai est striée sur un milieu solide gélosé à proximité du biosenseur, de sorte à former deux stries en forme de «T» (stries T-). La production d'AHL par la bactérie test entraîne un changement phénotypique, soit un changement dans la coloration chez le biosenseur. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la proximité des deux souches.^{112,113}

IV.3. Résultats :

a. Mode opératoire

L'effet d'extinction du quorum (inhibition du quorum sensing) a été évalué par le test de *Chromobacterium violaceum*.¹¹⁴ Des disques imprégnés de solutions de DMSO 100 mM des composés à tester **8** (ZJA21), **15** (ZJA31), **9** (ZJA41) et **13** (ZJA102), ont été placés sur la surface de la gélose Luria Bertani (LB). Une couche de 4 ml de gélose molle LB (0,5% d'agar) inoculée avec 100 μ l d'une culture fraîche de *C. violaceum* ATCC 12472 dans du

¹¹¹L. Steindler, V. Venturi. *FEMS.Micro.Lett.* **2007**, 266, 1-9.

¹¹²J. B. Andersen, A. Heydorn, M. Hentzer, L. Eberl, O. Geisenberger, B. B. Christensen, S. Molin, M. Givskov. *App. Env. Micro.* **2001**, 67, 575.

¹¹³W. Chu, D. A. Vattam, V. Maitin, M. B. Barnes, R. J. McLean. *Methods. Mol. Biol.* **2011**, 692, 3.

¹¹⁴R. J. C. McLean, L. S. Pierson III, C. Fuqua. *J.Micro. Meth.* **2004**, 58, 351.

bouillon LB a été doucement versée sur la surface du milieu solide. Des tranches d'ail frais ont été utilisées comme contrôle positif pour l'effet d'extinction du quorum¹¹⁵ et un disque vierge imprégné de DMSO a été inclus comme témoin négatif. Les cultures ont été incubées pendant 24h à 30° C.

b. Résultats

L'inhibition de la détection du quorum a été détectée par le manque de pigment violet dans la culture en croissance dans la couche de recouvrement (figure 40).

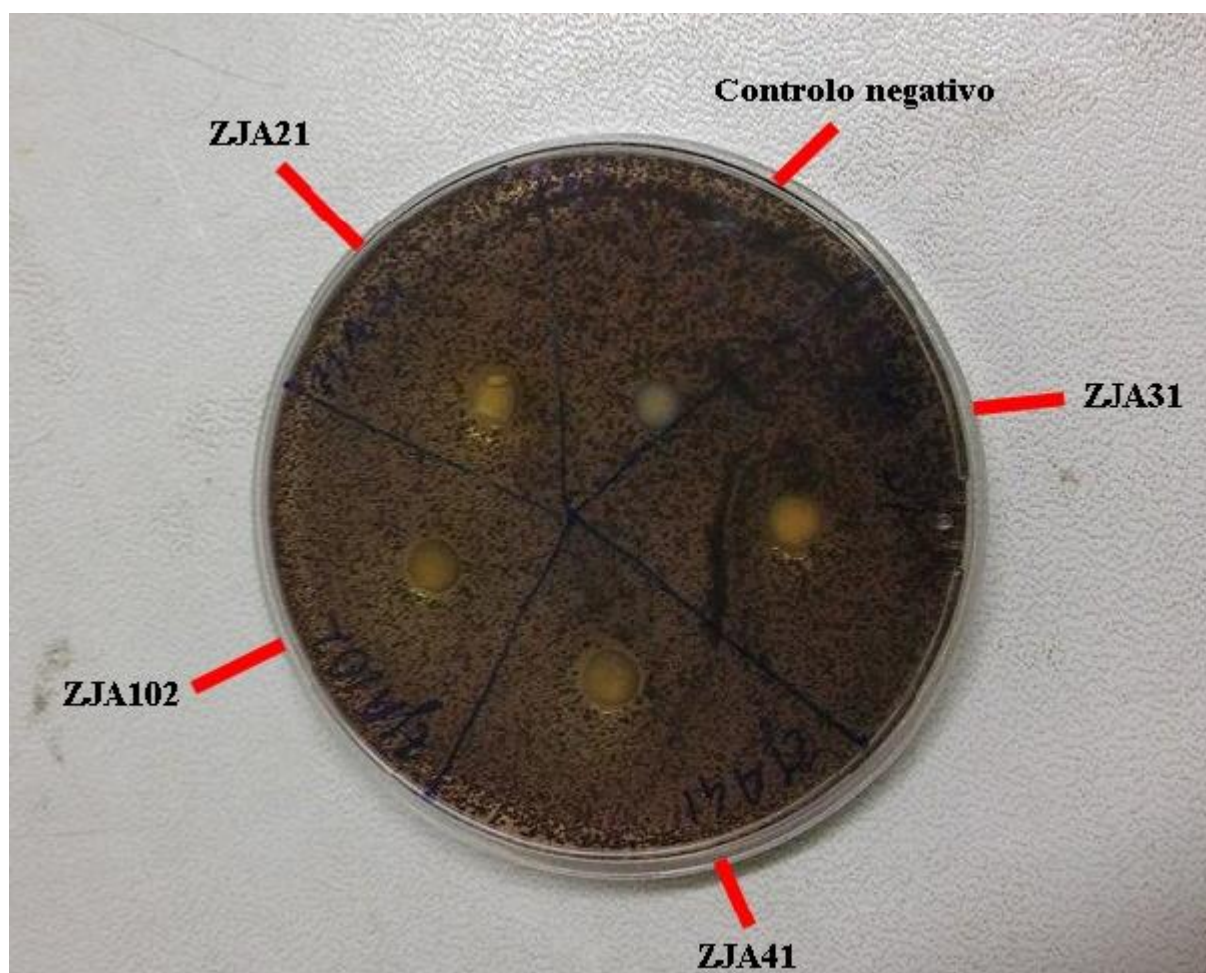


Figure 40

En conclusion les composés spiropyrazolique **8** (ZJA21), **15** (ZJA31), **9** (ZJA41) et **13** (ZJA102), ne possèdent aucune activité inhibitrice de quorum sensing.

¹¹⁵ T. B. Rasmussen, T. Bjarnsholt, M. E. Skindersoe, M. Hentzer, P. Kristoffersen, M. Köte, J. Nielsen, L. Eberl M. Givskov. *J. Bact*, **2005**, *18*, 1799.

Chapitre IV :

Evaluation et application des études *in silico* des dérivés spiropyrazoliques.

I. Introduction

La recherche *in silico*,¹¹⁶ ce vocable indique le début et l'ampleur d'un phénomène en biologie moléculaire, les recherches ne sont plus seulement *in vivo* ou *in vitro*, mais ont un recours de plus en plus essentiel aux analyses informatiques.

La modélisation moléculaire *in silico*¹¹⁷ (bio-informatique et chemio-informatique) est très utile dans la découverte des nouveaux candidats-médicaments ces études sont extrêmement rapides et rentables, il facilite l'exploration de l'espace chimique et permet de réaliser d'une manière rapide et à moindre coût des prédictions de l'activité des molécules.

Le concept de similaire-médicament (*drugs likeness*) aide à optimiser les propriétés pharmacocinétique et pharmaceutiques, par exemple, solubilité, stabilité chimique, biodisponibilité et profil de distribution. Un certain nombre de descripteurs moléculaires ont émergé comme raisonnablement informatif et prédictif, par exemple, la règle de cinq de Lipinski¹¹⁸ ou les paramètres de Veber.¹¹⁹

Dans ce chapitre, nous allons présenter tout d'abord un rappel bibliographique sur le criblage virtuel (*screening in silico*), et puis nous présenterons par la suite notre étude *in silico* des nouveaux composés spiropyrazoliques synthétisés.

II. Règles de Lipinski

En 1997, Lipinski et ses collègues de Pfizer¹²⁰ proposent ce qu'on appelle couramment la « règle de Lipinski » ou la « règle de 5 ». Cette règle de cinq de Lipinski décrit les propriétés moléculaires d'un composé requis pour estimer ses paramètres pharmacocinétiques importants tels que l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion.

La règle est plus utile lors de l'optimisation de ses paramètres pour augmenter l'activité et sélectivité d'un médicament candidat probable.

Ainsi la définition de cette règle repose sur la recherche des propriétés telle que la toxicité comme les risques mutagènes, tumorigènes, irritants, reproductifs et pharmacologiques tels que le coefficient de partage cLogP, la solubilité, la masse moléculaire

¹¹⁶F. G. Hansen, B. B. Christensen, T. Atlung. *Res. Microbiol.* **1991**, 142, 161.

¹¹⁷ N. Balakrishnan, J. S. Raj, N. Kandakatla. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2015**, 7, 295.

¹¹⁸ C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. M. Dominy, P. J. Feeney. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **1997**, 23, 118.

¹¹⁹D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2615.

¹²⁰ C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. M. Dominy, P. J. Feeney. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **1997**, 23, 118.

(MM), la surface moléculaire topologique polaire (TPSA), la similarité médicamenteuse et le score médicamenteux.^{121,122}

II.1. Toxicité

L'évaluation des risques de toxicité est obligatoire pour éviter les substances destructrices pour le traitement ultérieur de la découverte et du développement de médicaments. Les risques de toxicité mutagène, tumorigène, irritante et reproductive ont été mesurés au moyen d'un ensemble précalculé de fragments structuraux créé à partir de la classification des composés de la base de données du Registre des Effets Toxiques des Substances Chimiques (RTECS). Les risques de toxicité sont estimés avec le code de couleur. Les effets non souhaités (risques toxiques) de la molécule sont affichés en rouge et tandis que la couleur verte indique les effets désirés du composé.¹²³

II.2. Coefficient de partage : cLogP

cLogP est un coefficient de partage entre le n-octanol et l'eau. Il indique l'hydrophobicité des molécules de médicaments et influe sur les risques d'absorption, de biodisponibilité, de métabolisme et de toxicité d'un médicament. cLogP est un paramètre clé dans la découverte de médicaments et dans les études de toxicité environnementale. Les valeurs calculées de cLogP dépassent 3000 pour les médicaments sur le marché et indiquent que la valeur élevée de logP entraîne une mauvaise absorption ou perméation. La valeur de clogP ne doit pas être supérieure à 5,0.¹²⁴

II.3. Poids moléculaire et solubilité : logS

Comme l'absorption d'une molécule de médicament est liée au poids moléculaire, l'augmentation du poids moléculaire diminuera l'absorption. Garder moins de poids moléculaire est essentiel dans le processus de développement de médicaments. L'analyse du poids moléculaire des médicaments disponibles a montré que les 80% des médicaments ont un poids moléculaire <450. La propriété de solubilité (logS) d'un médicament en solution aqueuse affecte les caractéristiques d'absorption et de distribution.

¹²¹ P. Ertl, B. Rohde, P. Selzer. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 3714.

¹²² D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 2615.

¹²³ P. C. Jagadish, N. Soni, A. Verma, *J. Chem.*, **2013**, *2013*, 1.

¹²⁴ S. A. Wildman, G. M. Crippen. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 868.

II.4. Surface topologique polaire (TPSA)

Est une surface polaire moléculaire qui caractérise les propriétés de transport d'un médicament. Cette propriété est définie par les atomes polaires et prédite en utilisant différentes méthodes de PSA 3D classique et la somme des contributions de surface tabulées des fragments polaires. TPSA de molécules de médicament <160 Å².¹²⁵

II.5. La ressemblance médicamenteuse : drug likeness

Est définie sur la base des caractéristiques structurales d'un composé présentant les mêmes caractéristiques structurales de médicaments commercialisés. La similarité médicamenteuse est la somme des valeurs de score des fragments présents dans la molécule. La valeur positive de la similarité médicamenteuse indique que la molécule testée contient principalement des fragments qui sont fréquemment présents dans les médicaments commercialisés.

Un contributeur majeur dans le domaine de la caractérisation de composés « drug-like » est Lipinski avec la « règle des 5 ». ¹²⁶ Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « drug-like ». ¹²⁷ D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité :

- masse moléculaire ≤ 500 Da ;
- $\log P \leq 5$;
- accepteurs de liaisons H ≤ 10 ;
- donneurs de liaisons H ≤ 5 .

La « règle des 5 » a été mise au point à partir de composés administrables par voie orale ayant passé avec succès la phase II des tests cliniques. Ce n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés étant potentiellement des médicaments de ceux n'en étant pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité.

La valeur du score du médicament indique le potentiel global d'un composé à être un candidat-médicament.

¹²⁵ B. Namachivayam, J. S. Raj, N. Kandakata. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014**, *6*, 1-8.

¹²⁶ C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. M. Dominy, P. J. Feeney. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3.

¹²⁷ C. A. Lipinski. *Drug. Discov. Today.* **2004**, *1*, 337.

III. Logiciel Molinspiration

Le logiciel Molinspiration est un outil basé sur le Web qui a été utilisé pour prédire le score de bioactivité de nouveaux composés spiropyrazoliques contre les récepteurs humains réguliers tels que GPCR, canal ionique, kinase, récepteur nucléaire, protéase et enzyme.¹²⁸

Les scores de bioactivité ont été prédits pour différentes cibles humaines pour tous les composés spiropyrazolones

La bioactivité d'un composé a été décidée sur la base du score de bioactivité. Si le score de bioactivité est > 0 , c'est un composé actif alors que $< -5,0$ c'est un composé inactif et la plage entre $-5,0$ et $0,0$ correspond à un composé modérément actif.

IV. Résultats et discussion

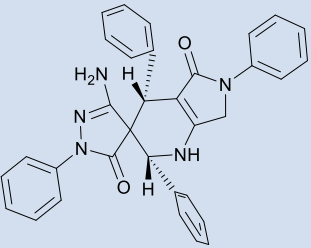
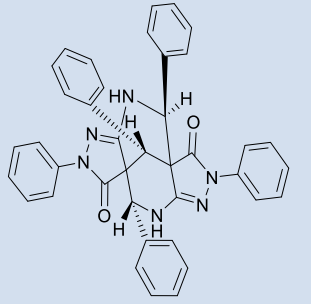
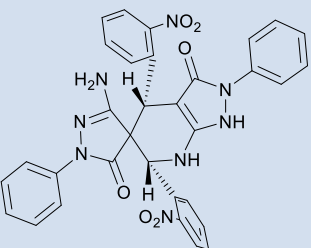
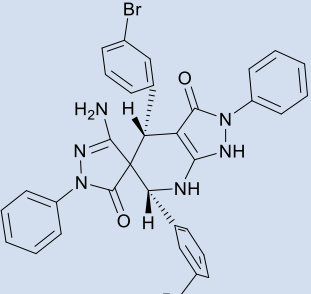
Dans la présente étude, tous les composés spiropyrazoliques que nous avons synthétisés ont été soumis à des études *insilico* afin de s'assurer des risques de toxicité et des propriétés pharmacocinétiques des molécules qui sont des facteurs clés pour déterminer la similarité médicamenteuse des molécules. Les propriétés moléculaires des dérivés spiropyrazolones sont calculées en utilisant le logiciel Molinspiration chiminformatique et sont présentés dans le tableau 7.

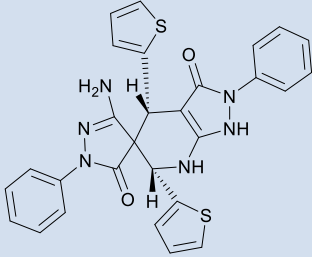
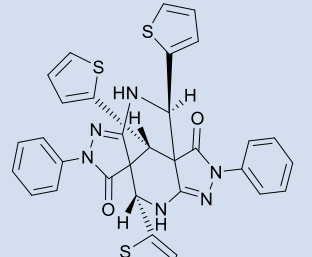
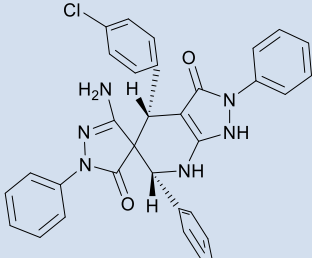
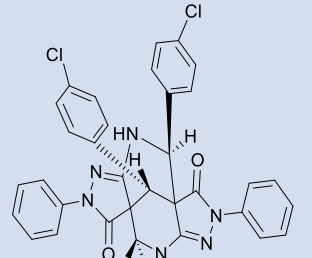
Les scores de similarité de médicament ont été calculés en considérant MiLog P (coefficient de partage), poids moléculaire, nombre d'atomes lourds, nombre de donneurs d'hydrogène, nombre d'accepteurs d'hydrogène et nombre de violation, nombre de liaison rotative et volume. Ces propriétés ont été calculées et discutées sur la base de la règle de Lipinski et sa composante.

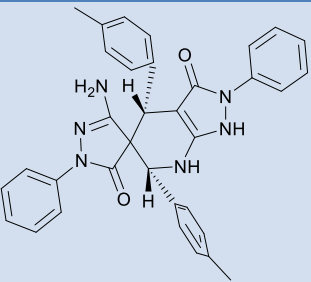
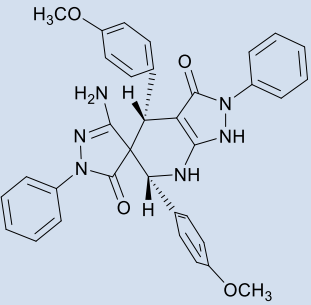
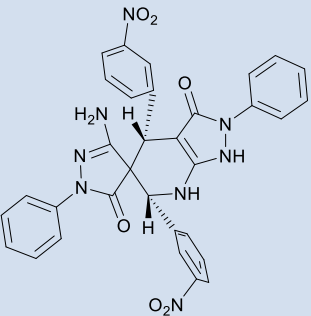
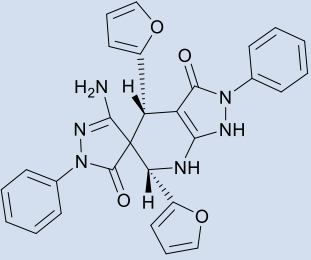
¹²⁸ J. R. Proudfoot. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1647.

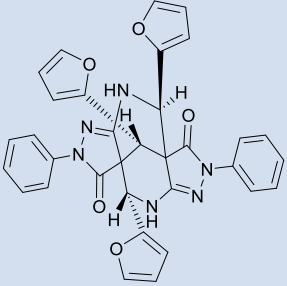
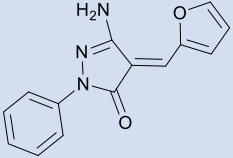
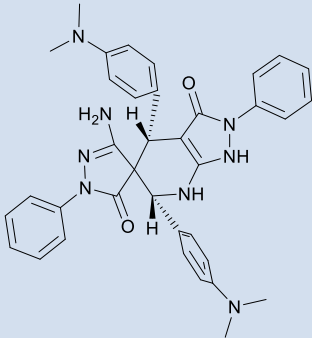
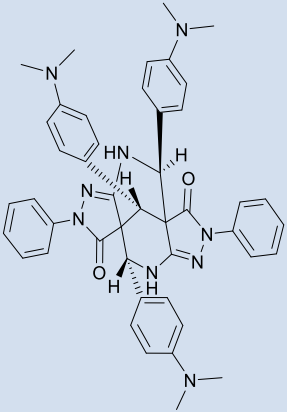
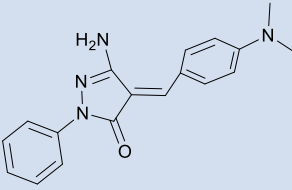
a. Molinspiration chimioinformatique

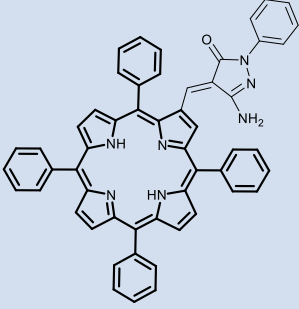
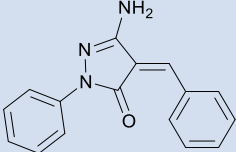
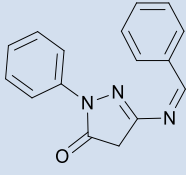
Tableau 7 : Propriétés de ressemblance médicamenteuse relatives aux composés spirohétérocycliques synthétisés / La règle des cinq paramètres de Lipinski.

Produits	Masse Moléculaire	miLogP	<i>n</i> -RO TB	<i>n</i> -ON accepteurs	<i>n</i> -ONNH donneurs	<i>n</i> violations	Volume	TPSA
 <p>5</p>	525.61	5.37	4	7	3	2	470.61	91.03
 <p>6</p>	614.71	6.59	5	8	2	2	544.66	89.40
 <p>7</p>	616.59	4.14	6	14	4	2	512.88	200.17
 <p>9</p>	684.39	5.88	4	8	4	2	501.98	108.52

 <p>11</p>	538.66	4.11	4	8	4	1	447.63	108.52
 <p>12</p>	632.80	5.82	5	8	2	2	516.80	89.40
 <p>13</p>	595.49	5.67	4	8	4	2	493.28	108.52
 <p>14</p>	718.04	8.49	5	8	2	2	585.27	89.40

 <p>15</p>	554.65	5.21	4	8	4	2	499.33	108.52
 <p>16</p>	586.65	4.43	6	10	4	1	517.30	126.99
 <p>17</p>	616.59	4.18	6	14	4	2.	512.88	200.17
 <p>18</p>	506.52	2.83	4	10	4	1	429.34	134.80

 <p>19</p>	584.59	3.89	5	11	2	2	489.37	128.82
 <p>20</p>	253.26	1.50	2	5	2	0	219.91	74.06
 <p>21</p>	612.74	4.52	6	10	4	1	558.02	115.00
 <p>22</p>	743.92	6.90	8	11	2	3	682.38	99.11
 <p>23</p>	306.37	2.34	3	5	2	0	284.25	64.16

 24	799.94	9.68	6	8	4	2	716.44	118.29
 PT₁	263.30	2.24	2	4	2	0	238.34	60.92
 PT₁	263.30	2.85	3	4	0	0	239.7	45.04

(a) n-ROTB, nombre de liaisons rotatives; n-ON, nombre d'accepteurs d'hydrogène; n-OHNI, nombre de donneurs de liaisons hydrogène; TPSA, surface topologique polaire; n violations, nombre de violations selon la « règle des cinq » de Lipinski.

b) Poids moléculaire et autres propriétés calculées sans contre-masse ionique. (c) Logarithme de coefficient de partage entre le n-octanol et l'eau (miLogP); PT₁, PT₂ Les produits témoins 1 et 2 (Schéma 45).

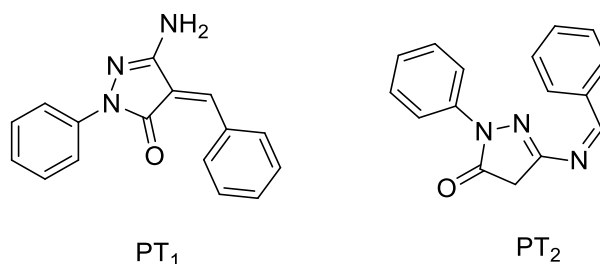


Schéma 45

Le nombre de liaisons rotatives est un paramètre topologique simple qui mesure la flexibilité moléculaire et est considéré comme un bon descripteur de la biodisponibilité orale des médicaments. Parmi les composés criblés toutes les imines étaient flexibles.

Nous avons trouvé que tous les composés sauf **7**, **19**, **17** et **22** avaient des donneurs de liaison hydrogène <5 et des accepteurs de liaison hydrogène <10 qui se trouvaient être dans la limite de Lipinski, c'est-à-dire moins de 5 et 10 respectivement.

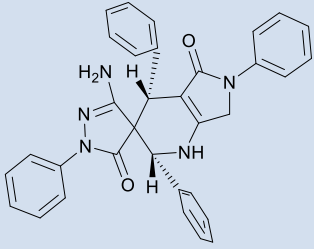
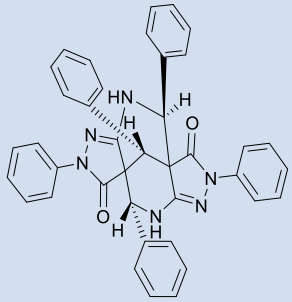
Pour les composés **7**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20**, **11**, **21**, **23**, la valeur de Milog P est inférieure à 5, ce qui signifie que ces composés ont montré une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire.

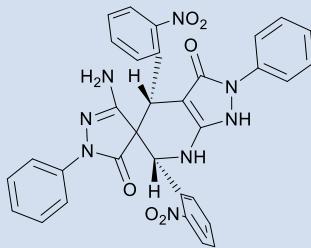
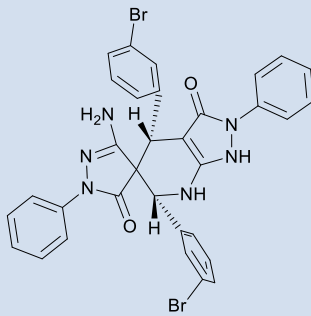
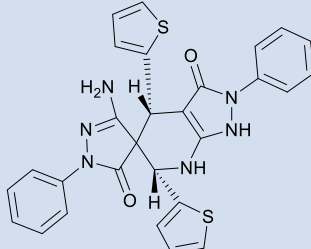
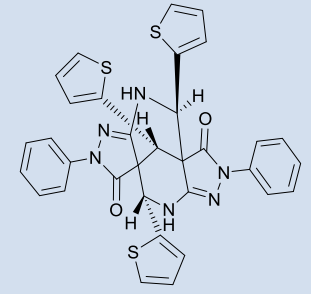
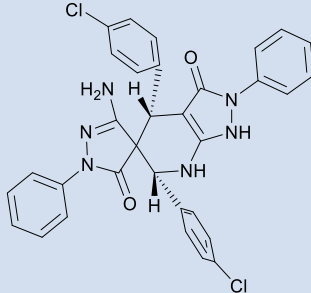
En ce qui concerne le TPSA, Tous les composés se sont avérés avoir une valeur de TPSA dans la gamme de 45.04-134 et étaient bien au-dessous de 160 Å² sauf les deux composés **7** et **17**. Cela montre que les molécules remplissent les conditions optimales d'absorption du médicament.

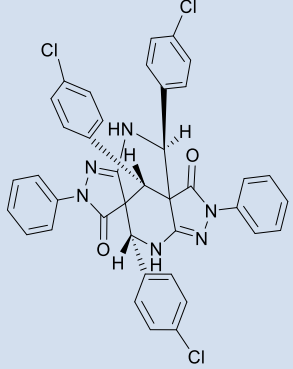
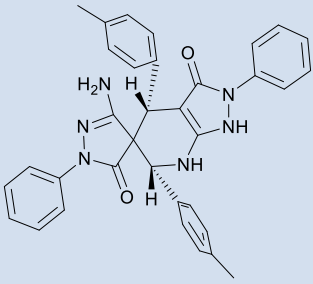
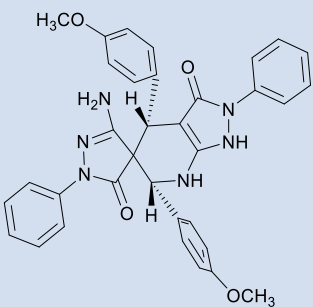
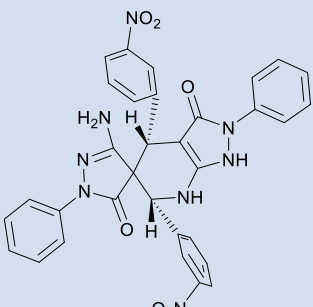
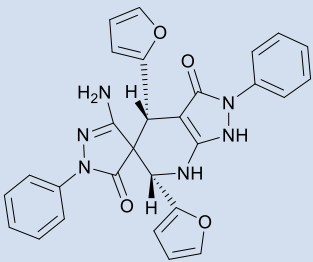
Les molécules de médicaments de faible poids moléculaire (<500) signifient qu'elles sont facilement transportées, diffusées et absorbées par rapport aux molécules lourdes. Tous les composés ont un poids moléculaire supérieur à 500, à l'exception des composés **20** et **23**, qui ont des valeurs n violations égales à 0, et qui peuvent facilement se lier au récepteur. Tous les composés ont été trouvés pour n violations supérieur à 1.

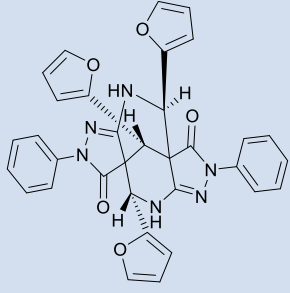
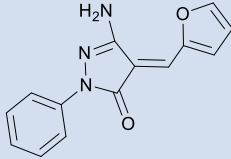
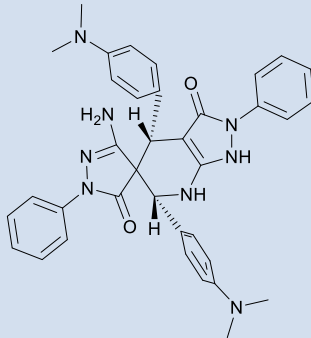
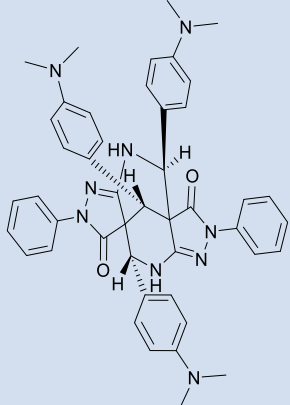
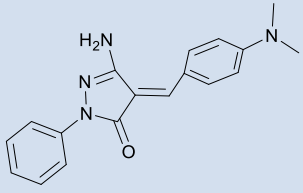
b. Score de bioactivité des composés spiro

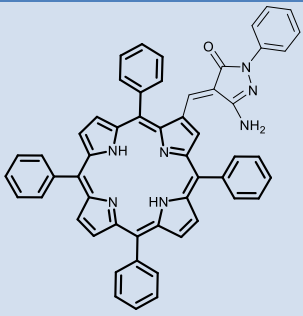
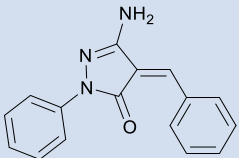
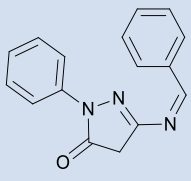
Tableau 8: paramètres de bioactivité calculés par un criblage *in silico*

Composé	Ligand GPCR	Modulateur de Canal Ionique	Inhibiteur de Kinase	Ligand de Récepteur Nucléaire	Inhibiteur de Protéase	Inhibiteur d'Enzymes
 <p>5</p>	-0.33	-0.51	-0.63	-0.55	-0.26	-0.39
 <p>6</p>	-0.39	-1.15	-0.91	-0.85	-0.24	-0.73

 <p>7</p>	-0.63	-1.23	-1.03	-1.03	-0.64	-0.93
 <p>9</p>	-0.75	-1.66	-1.35	-1.35	-0.52	-1.15
 <p>11</p>	-0.45	-0.71	-0.54	-0.75	-0.55	-0.48
 <p>12</p>	-0.31	-0.87	-0.75	-0.68	-0.28	-0.51
 <p>13</p>	-0.37	-0.82	-0.55	-0.68	-0.44	-0.59

 <p>14</p>	-0.70	-1.62	-1.32	-1.29	-0.48	-1.12
 <p>15</p>	-0.39	-0.86	-0.57	-0.69	-0.45	-0.60
 <p>16</p>	-0.47	-1.04	-0.69	-0.81	-0.47	-0.72
 <p>17</p>	-0.65	-1.26	-0.93	-1.04	-0.57	-0.91
 <p>18</p>	-0.40	-0.69	-0.55	-0.72	-0.62	-0.49

 <p>19</p>	-0.26	-0.87	-0.78	-0.66	-0.35	-0.52
 <p>20</p>	-0.83	-1.01	-0.33	-1.10	-0.84	-0.61
 <p>21</p>	-0.55	-1.24	-0.84	-0.98	-0.50	-0.85
 <p>22</p>	-1.60	-2.84	-2.44	-2.48	-1.17	-2.13
 <p>23</p>	-0.42	-0.66	0.05	-0.49	-0.41	-0.35

 <p>24</p>	-2.91	-3.63	-3.22	-3.59	-2.28	-3.14
 <p>PT₁</p>	-0.57	-0.72	-0.06	-0.67	-0.54	-0.37
 <p>PT₁</p>	-0.71	-0.64	-0.99	-0.89	-0.83	-0.37

Les scores de bioactivité des composés sélectionnés pour l'évaluation sur la base du ligand GPCR, du modulateur du canal ionique, du ligand du récepteur nucléaire, de l'inhibiteur de la kinase, de l'inhibiteur de la protéase, de l'inhibiteur enzymatique sont indiqués dans le tableau 8. Ces scores pour les molécules organiques peuvent être interprétés comme actifs (score de bioactivité > 0), modérément actifs (score de bioactivité: -0.5-0.0) et inactifs (score de bioactivité < -0.5). Le calcul du score de similarité des médicaments vis-à-vis des ligands GPCR montre que les composés (**5, 6, 11, 12, 13, 15, 16, 18, 19** et **23**) ont montré une bioactivité modérée (-0.5).

Tous les composés se sont révélés inactifs (< -0.5) en tant que modulateur de canal ionique. Les composés **20, 23** se sont révélés être biologiquement modérément actifs (-0.5-0,0) et d'autres se sont révélés inactifs en tant qu'inhibiteur de kinase (< -0,5).

Les propriétés du récepteur nucléaire de tous les composés étaient inactives (< -0,5), sauf le composé **15** qui était modérément actif (-0.5-0,0). Tous les composés (**5, 6, 12, 13, 14, 15,16, 19, 21** et **23**) se sont révélés avoir une activité inhibitrice modérée (-0.5-0,0), et d'autres inactifs (<-0,5) dans le cas de la protéase. Les composés **5, 11, 12, 18,** et **23** se sont révélés présenter une inhibition d'enzyme (-0,5 – 0,0) modérément comparés à d'autres.

V. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons réalisé une études *in silico* des composés spiropyrazoliques synthétisés, suivant les propriétés similarités médicamenteuses, et le score de bioactivité sur différentes cibles humaines comme GPCR, canal ionique, kinase, récepteur nucléaire, protéase et enzyme.

Toutes ces caractéristiques ont été prédites pour les nouveaux composés spiropyrazolones synthétisés, en utilisant l'outil d'exploration Molinspiration. Tous les composés spiro ont obéi à la règle de Lipinski et la majorité des spiropyrazoles ont montré une bioactivité modérée.

Nous avons présenté dans ce chapitre les notions théoriques relatives à l'étude *in silico* appliqué sur les nouveaux spiropyrazolones. Ces méthodes de criblage virtuel "screening *in silico*" sont utilisées dans les premières phases de développement de nouveaux médicaments, pour conduire à la sélection des composés les plus prometteurs.

Chapitre V :
Etudes pharmacologiques

I. Introduction

Les maladies neurodégénératives (MND) correspondent à une pathologie progressive qui affecte le cerveau ou plus globalement le système nerveux, entraînant la mort des cellules nerveuses.¹²⁹Ces maladies dont l'étiologie est pour la plus grand part inconnue. Ces maladies ont des manifestations cliniques diversifiées comprenant, entre autres, les maladies des neurones moteurs telles que la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA), les troubles cérébelleux, la Maladie de Huntington (MH), la Maladie de Parkinson (MP), la Maladie d'Alzheimer (MA).

Ces maladies sont des maladies orphelines, c'est-à-dire, des pathologies ne bénéficiant pas de traitement efficace. La dégénérescence atteint une population neuronale de façon relativement sélective : dans les cas de la MH elle concerne les neurones épineux de taille moyenne du striatum ; dans la MP elle concerne les neurones dopaminergiques, la substance noire du mésencéphale.Elle est aussi progressive et conduit inévitablement à la mort neuronale.¹³⁰

Il est aujourd'hui reconnu qu'au cours de la progression de ces pathologies, les autres populations de neurones peuvent être secondairement atteintes, et que la diffusion du processus neurodégénératif peut suivre les circuits de communication intracérébrale. Récemment différentes études ont observé des similarités entre le mode de progression du processus neurodégénératif dans ces maladies avec celui observé dans les maladies à prions.¹³¹

Les études épidémiologiques et expérimentales ont fourni les preuves que plusieurs facteurs de risque tels que l'âge avancée, les anomalies génétiques et un nombre de mécanismes pathogéniques, tels que des anomalies du cytosquelette, l'auto-immunité, les carences en minéraux, certaines troubles métaboliques, l'hypertension et d'autres troubles vasculaires contribuent à la dégénérescence des neurones.¹³²

Mais les mécanismes les plus universellement reconnus comme ayant un lien étroit avec la neurodégénérescence sont : 1) le stress oxydant, 2) la persistance de quantités élevées des neurotransmetteurs excitateurs au niveau de la synapse, l'excitotoxicité, et 3) la neuroinflammation.

¹²⁹L. M. Sayre, G. Perry, M. A. Smith. *Chem. Res.Toxicol.* **2008**, 21, 172.

¹³⁰ C. Mancuso, G. Scapagnini, D. Currò, A. M. Giuffrida Stella, C. De Marco, D. A.Butterfield, V. Calabrese. *Front. Bio. sci.* **2007**, 12, 1107-1123.

¹³¹ G. Mallucci. *Brain.* **2013**, 136, 994.

¹³²A. Nieoullon. *J. Appl. Biomed.* **2011**, 9, 173.

II. Mécanismes de neurodégénérescence

Si les causes de l'émergence des MND sont encore peu connues, les mécanismes de mort cellulaire ont été largement étudiés aussi bien chez l'homme que dans des modèles animaux de ces pathologies. Cependant, beaucoup de mécanismes ayant été proposés restent encore largement débattus au sein de la communauté scientifique. Cela est notamment dû à l'incroyable diversité des types de neurones affectés pouvant différer en termes de morphologie, de localisation, de rôle, ou de composition neurochimique ; mais aussi de la complexité de l'environnement dans lesquels ils se trouvent, le système nerveux.

II.1. Agrégation toxique de protéines

Malgré l'hétérogénéité apparente de ces maladies, il existe des mécanismes physiopathologiques communs. Celui qu'on retrouve dans quasiment toutes les MND est l'agrégation toxique de protéines.

Le génome humain code environ 30 000 protéines qui ont chacune une forme et une ou plusieurs fonctions biologiques leur étant propres. Après leur synthèse, les protéines acquièrent une forme native spécifique en trois dimensions qui leur permet d'exercer leurs actions biologiques. Il arrive que sous certaines contraintes, des protéines présentent une forme anormale à cause d'un mauvais repliement.

Dans des conditions physiologiques, ces protéines mal repliées sont soit corrigées par des protéines chaperonnes soit dégradées et éliminées par le système ubiquitine-protéasome ou par le système phagosome-lysosome (autophagie). Des facteurs tels que l'âge, les mutations génétiques, des changements de l'environnement intracellulaire, les variations de *pH*, le stress oxydant, ou les métaux lourds, peuvent conduire à l'augmentation de concentration de protéines mal repliées.

Ces protéines normalement solubles vont alors s'agréger entre elles pour constituer des oligomères qui vont eux-mêmes s'agréger formant ainsi des fibrilles qui sont insolubles. Ces dernières vont alors former des inclusions intranucléaires ou intracytoplasmiques et peuvent également constituer des agrégats extracellulaires qu'on appelle alors plaques séniles.¹³³

¹³³P. Sweeney, H. Park, M. Baumann, J. Dunlop, J. Frydman, R. Kopito, R. Hodgson. *Transl. Neurodegener.* **2017.** 6, 1.

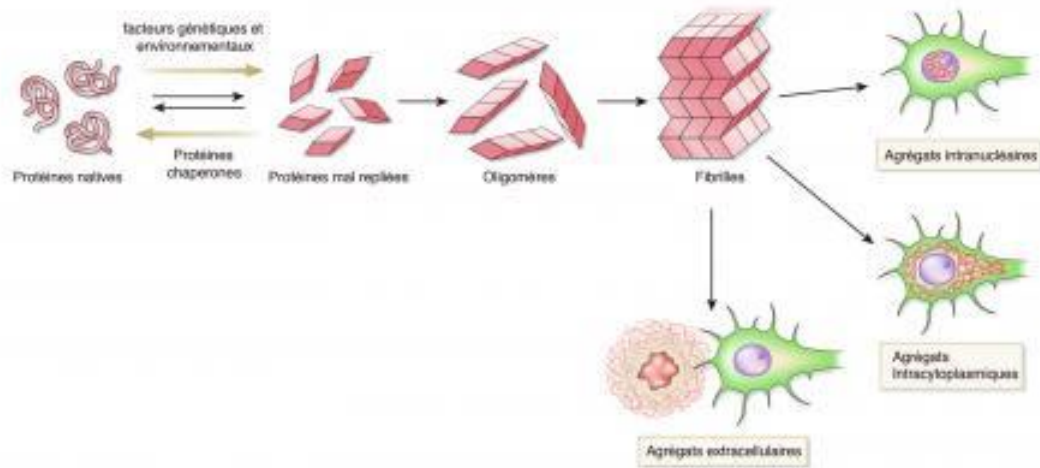


Figure 41. Mécanismes de formation des agrégats de protéines dans les maladies neurodégénératives¹³⁵

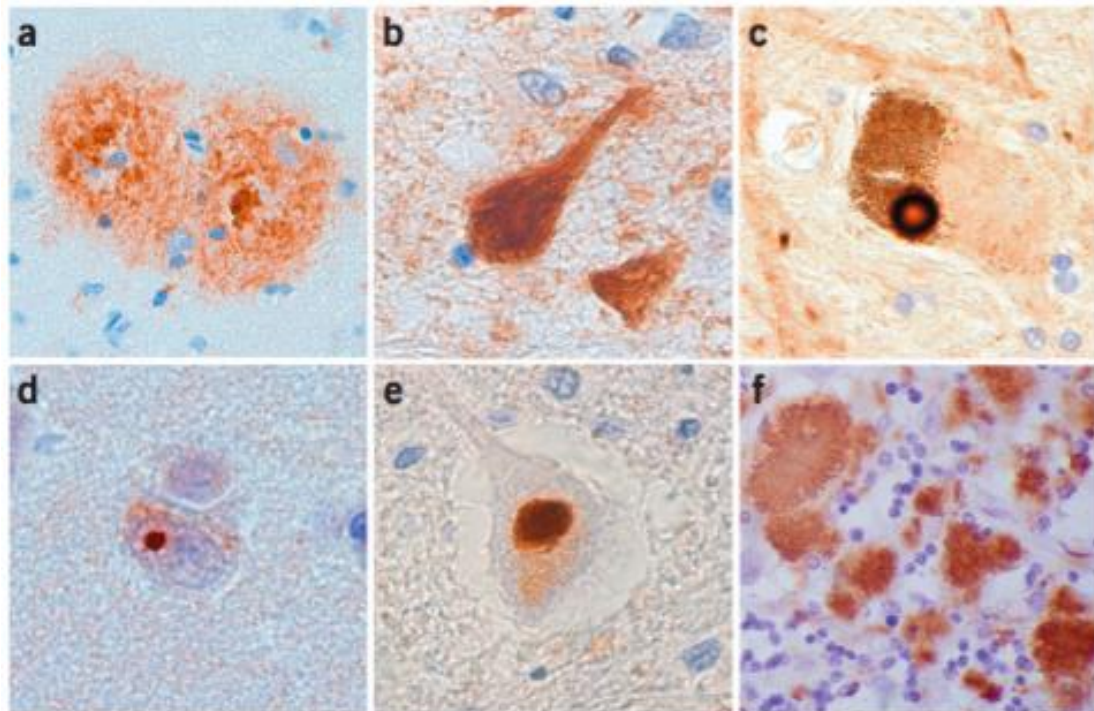


Figure 42. Protéines agrégées dans les maladies neurodégénératives¹³⁵

(a) Plaque séniles dans le cortex d'un patient Alzheimer. (b) Agrégats de protéines Tau dans l'hippocampe d'un patient atteint de dégénérescence fronto-temporale. (c) Corps de Lewy dans la substance noire d'un patient parkinsonien. (d) Inclusion intranucléaire de polyglutamine dans le cortex d'un patient atteint de la chorée de Huntington. (e) Inclusion d'ubiquitine dans la moelle épinière d'un patient atteint de la sclérose latérale amyotrophique. (f) Protéine PrP dans le cervelet d'un patient atteint de la maladie de Creutzfeld-Jakob.

Il a été largement démontré que la présence de ces agrégats de protéines mal repliées corrèle avec la progression des MND.¹³⁴ Cependant, les mécanismes par lesquels leur toxicité est véhiculée restent encore obscurs.¹³⁵ Trois hypothèses peuvent expliquer cette toxicité :

- *L'hypothèse de la perte de fonction : la mort neuronale serait causée par la perte de l'activité des protéines mal repliées et agrégées.*
- *L'hypothèse du gain de fonction : les protéines mal repliées et agrégées gagnent une fonction neurotoxique. Par exemple, leur accumulation extracellulaire pourrait engendrer l'interaction avec des récepteurs et provoquer une mort cellulaire programmée.*
- *L'hypothèse de l'inflammation : l'agrégation des protéines provoquerait une réaction inflammatoire au sein du système nerveux qui serait, à la longue, délétère pour les neurones.*

Cependant ces mécanismes cellulaires n'expliquent ni la sélectivité des neurones touchés, ni la sélectivité des zones du système nerveux endommagées.

II.2. Augmentation de l'apoptose

L'apoptose est un type de mort cellulaire programmée. Il s'agit d'un processus biologique déclenché par des signaux spécifiques qui conduisent à l'autodestruction de la cellule.

C'est un mécanisme génétiquement programmé et qui intervient dans des conditions physiologiques normales pour limiter la prolifération cellulaire, notamment lors du développement de l'organisme où les cellules sont souvent produites en surnombre.¹³⁶

Ainsi, le corps peut spécifiquement détruire des cellules inutiles ou incompetentes à un moment et un endroit précis. C'est notamment un moyen de prévention des cancers.

¹³⁴M. S. Forman, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee. *Nat. med.* **2004**, *10*, 1055.

¹³⁵V. Kumar, N. Sami, T. Kashav, A. Islam, F. Ahmad, I. Hassan. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 1105..

¹³⁶A. Nieoullon. *J. Appl. Biomed.* **2011**, *9*, 173.

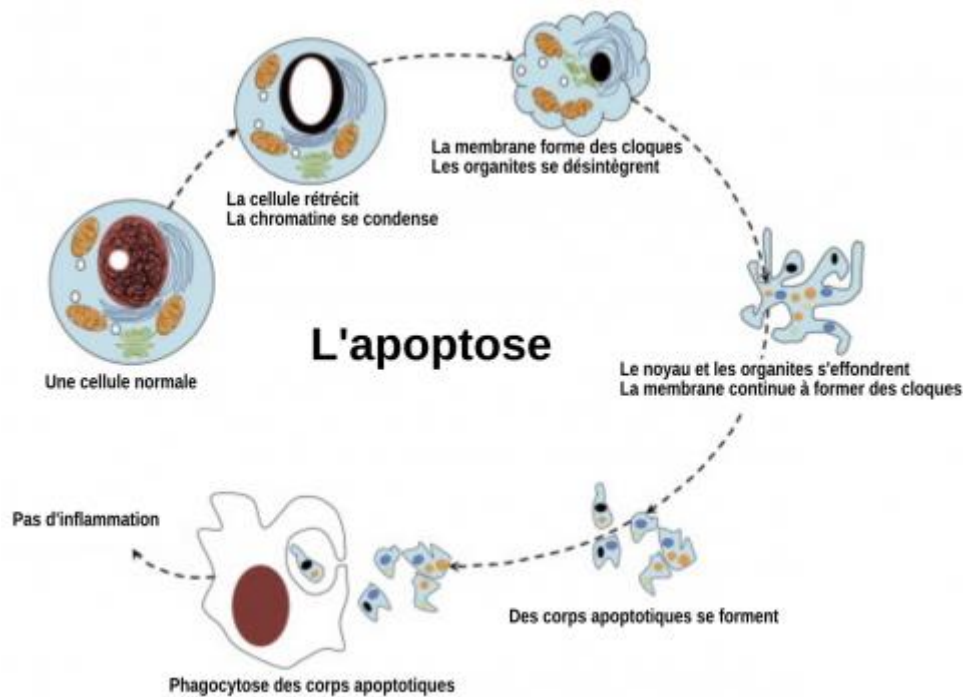


Figure 43. Un mécanisme de mort cellulaire programmée : l'apoptose

Il semblerait que dans les MND, les agrégats extracellulaires pourraient servir de signal pour déclencher l'apoptose des neurones. Mais d'autres signaux existent sûrement dans ces maladies et ne sont pas encore connus.¹³⁷ L'hypothèse de l'apoptose est renforcée par le fait que ce mécanisme est très sensible aux changements génétiques et aux facteurs environnementaux, qui pour certains corréleraient avec le déclenchement et la progression de MND. De plus, il existe une balance entre des facteurs pro-apoptotiques et des facteurs anti-apoptotiques. Ainsi, le déclenchement de certaines maladies pourrait être le reflet du dérèglement de cette balance apoptotique.

Pour l'instant les résultats des études montrent seulement que la mort des neurones dans les MND se fait par apoptose, sans que l'on sache si une dérégulation de l'apoptose est à l'origine des maladies, ou si l'apoptose n'est qu'une conséquence d'autres facteurs qui la déclenche.

II.3. Le stress oxydant

Le terme stress oxydant indique une perturbation de l'état oxydant intracellulaire, induite soit par une production excessive des espèces réactives de l'oxygène (EROs) et les espèces réactives de l'azote (ERA), soit par une diminution de la capacité des défenses

¹³⁷M. P. Mattson. *Nat. Rev.* **2000**,*1*, 120.

antioxydantes de l'organisme. Dans la définition de stress oxydant est donc comprise celle de stress nitrosatif. Pouvant être à la fois la cause ou une des causes et la conséquence de la dégénérescence, le rôle de premier plan du stress oxydant au cours de la pathogénie des maladies neurodégénératives a été reconnu depuis longtemps.

Le dioxygène est nécessaire à la vie de toute cellule de l'organisme. Cependant, les produits du métabolisme du dioxygène, appelés espèces réactives oxygénées (ROS reactive oxygen species en anglais), sont très toxiques pour la cellule. Ils incluent des radicaux libres comme l' $O_2^{\bullet-}$ (ion superoxyde), l'ion peroxynitrite $ONOO^-$, le radical hydroxyle HO^{\bullet} et d'autres espèces moléculaires comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Ces composés ont un potentiel redox très important et peuvent donc très facilement oxyder les molécules avoisinantes comme les protéines, les lipides ou l'ADN, ce qui peut être délétère. C'est tout l'équilibre de la cellule qui est alors perturbé. Cependant il existe normalement un système de protection qui permet d'éliminer ces composés toxiques.

Les neurones sont, par nature, particulièrement sensibles au stress oxydant à cause de leur grande consommation en énergie, d'une exposition supérieure au dioxygène, d'un enrichissement en ions métalliques, de leur composition plus riche en acide gras polyinsaturés sensibles à l'oxydation et enfin de leur faible contenance en molécules antioxydantes. Dans les MND, le système de protection est débordé et n'arrive plus à contrer la production de ROS qui s'accumulent dans les neurones et les conduisent lentement vers leur mort, notamment par le mécanisme d'apoptose. Plusieurs marqueurs du stress oxydant ont notamment été retrouvés dans certaines MND.¹³⁸

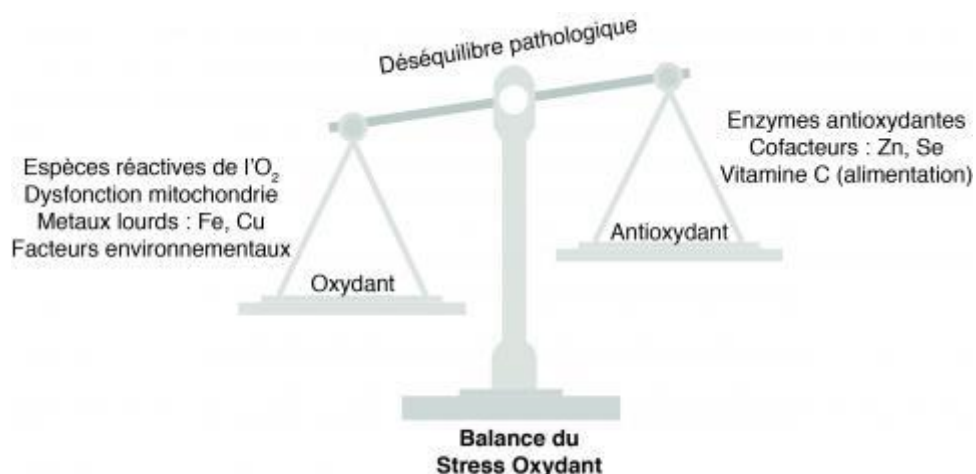


Figure 44. Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule

¹³⁸ J. K. Andersen. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2004, 5, 18.

Cependant, il n'a pas été montré si ce mécanisme peut être classé comme une cause ou une conséquence de la maladie. Le stress oxydant pourrait être une cause de l'agrégation des protéines, puisqu'en modifiant les protéines par oxydation ces dernières ne peuvent pas se replier correctement et auront donc tendance à s'agréger. Ce stress oxydant pourrait lui-même n'être qu'une conséquence de facteurs environnementaux ; les métaux lourds pourraient en effet favoriser la production de ROS.¹³⁹

II.4. Dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome

Une des voies de dégradation des protéines dans une cellule est le système ubiquitine-protéasome. Les protéines qui doivent être dégradées sont marquées par une protéine, l'ubiquitine, qui permet de les diriger vers le protéasome. Ce dernier est un complexe enzymatique qui va permettre de couper les protéines en peptides de 7 à 9 acides aminés qui seront ensuite hydrolysés puis recyclés hors du protéasome¹⁴⁰.

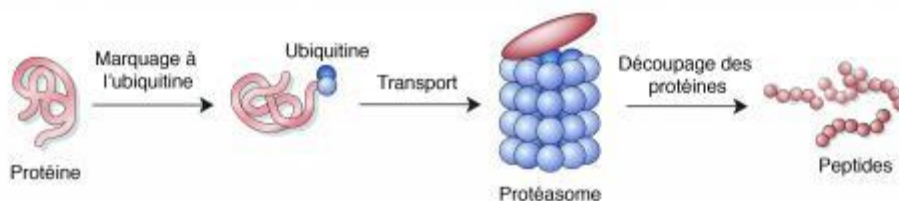


Figure 45. Système de dégradation des protéines : ubiquitine-protéasome

L'ubiquitine a été retrouvée sur des protéines présentes dans des agrégats de certaines MND, une preuve du dysfonctionnement du protéasome qui n'arrive plus à dégrader correctement les protéines marquées à l'ubiquitine. Cependant, les altérations du protéasome ne sont pas encore comprises et il n'a pas été démontré si ce système est un facteur clé initiateur ou juste un facteur aggravant.¹⁴¹

Les quatre mécanismes décrits ici pourraient être interdépendants. L'activation de l'un de ces mécanismes entraînerait alors les autres.

¹³⁹ R. C. Brown, A. H. Lockwood, B. R. Sonawane. *Environ. Health.Perspect.* **2005**, 1250, 1250–1256.

¹⁴⁰ J. Wang, M. A. Maldonado. *Cell. Mol. Immunol.* **2006**, 3, 255.

¹⁴¹a) M. S. Forman, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee. *Nature med.* **2004**, 10, 1055. b) A. Nieoullon. *J. Appl Biomed.* **2011**, 9,173.c) V. Kumar, N. Sami, T. Kashav, A. Islam, F.Ahmad, I. Hassan. *Eur J. Med. Chem.* **2016**, 124, 1105.

Dans cette hypothèse, l'activation de l'apoptose semble être une conséquence finale et définitive conduisant à la mort des neurones. Il existe encore d'autres mécanismes pouvant expliquer la mort des neurones, ils sont soit spécifiques à des MND, soit encore très peu connus et largement débattus.

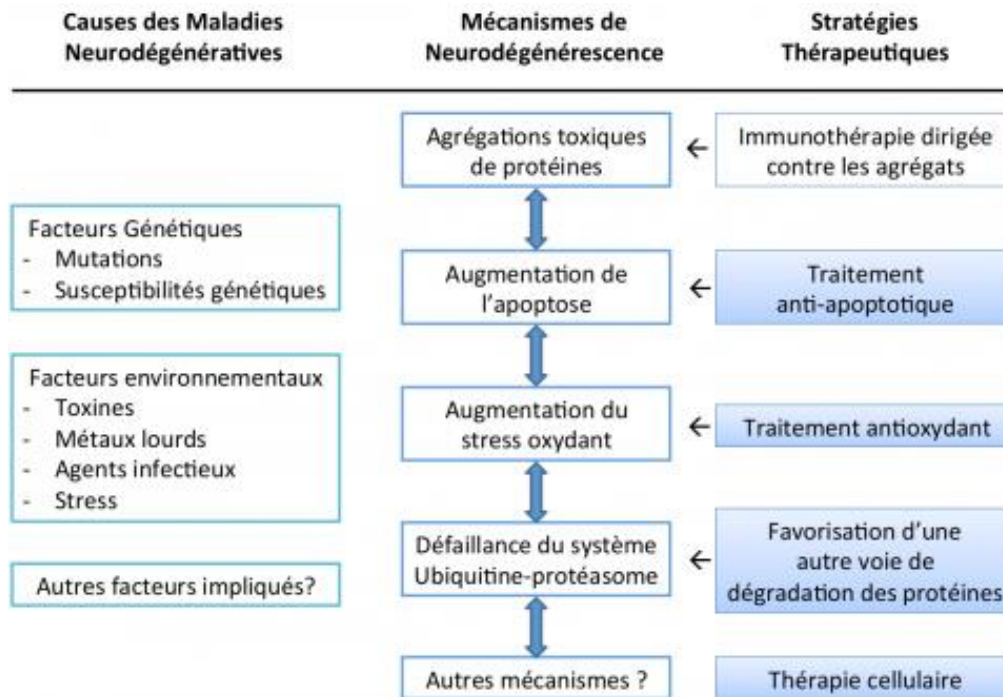


Figure 46. Schéma bilan Les maladies neurodégénératives

III. Étude biologique

Cette partie a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Professeur Luciano SASO, du département de Physiologie et Pharmacologie "Vittorio Erspamer", de l'Université Sapienza de Rome, en Italie. Et l'équipe du Professeur Taner DAGCI de la Faculté de Médecine et Fadime Aydın, Güliz Armagan de la Faculté de Pharmacie, Izmir, Turquie.

Une étude de viabilité cellulaire a été faite, pour évaluer l'effet des composés spiropyrazoliques que nous avons synthétisés précédemment, sur la neuroprotection, et le potentiel neuro-protecteur dans la neuro-dégénérescence induite par MPP⁺ (1-méthyl-4-phénylpyridinium).

III.1. Essais Colorimétriques MTT

Le test MTT est une méthode rapide de numération des cellules vivantes. C'est un test de détection colorimétrique de l'activité mitochondriale. Il est basé sur la capacité des cellules à réduire un composé jaune tétrazolium, le bromure de 3-(4-5 diméthylthiazol-2-yl)-diphényl tétrazolium (MTT), en un précipité formazan violet insoluble dans l'eau par les déshydrogénases mitochondriales présentes uniquement dans les cellules vivantes métaboliquement actives (Schéma 46).

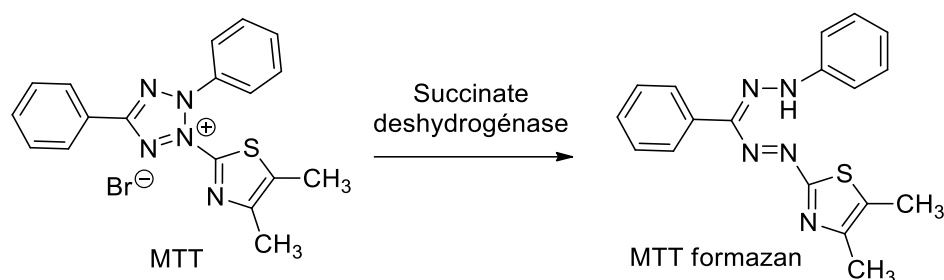


Schéma 46

Le produit absorbe fortement vers 570 nm. Il est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre pour microplaques. L'intensité de la coloration est considérée comme proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Les cellules sontensemencées à la concentration de 10 000 cellules/ml dans des plaques de 96 puits contenant 200 μ l de milieu.

Le test de toxicité n'est effectué que lorsque les cellules sont en phase exponentielle de croissance (généralement après un jour de prolifération dans les conditions optimales de milieu). Après trois jours de traitement, le milieu de culture est remplacé par du milieu sans sérum ni indicateur de pH, contenant 50 μ g/ml de MTT (Sigma). Les plaques sont ensuite incubées pendant 1 heure à 37°C. En fin d'incubation, le milieu contenant le MTT est aspiré avec précaution au moyen d'une aiguille, pour ne pas perturber les cristaux formés. Les puits sont ensuite à nouveau remplis avec 150 μ l de DMSO (Merck) et incubés pendant 30 mn à 37°C sous agitation. Après agitation vigoureuse, la lecture des plaques se fait à une longueur d'onde de 570 nm avec un lecteur de plaques ELISA.

III.2. Culture cellulaire et traitements

La lignée cellulaire de neuroblastoma humain (SH-SY5Y), utilisée dans cette étude a été achetée auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC, Catalogue CRL-2266).

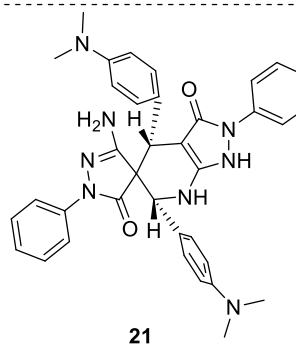
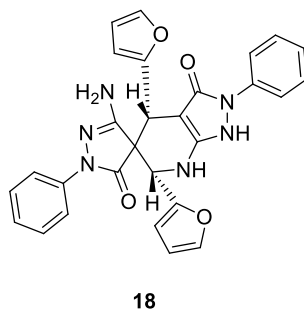
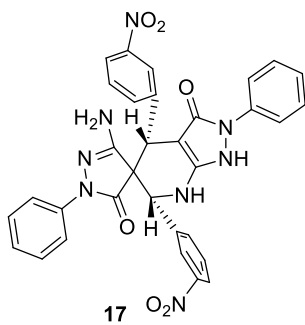
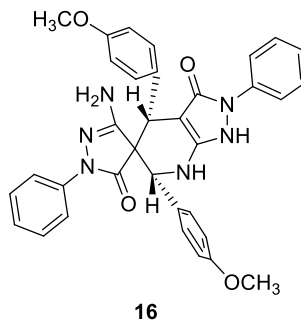
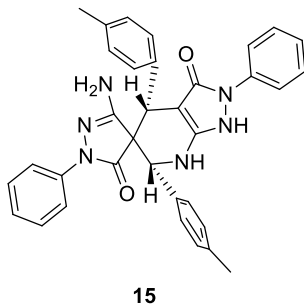
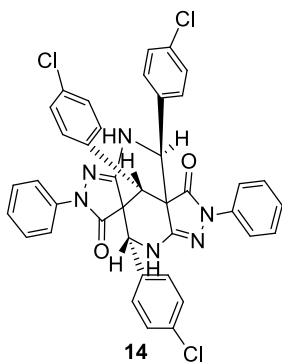
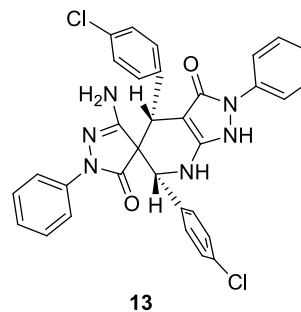
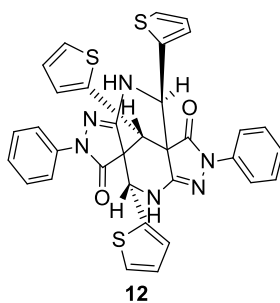
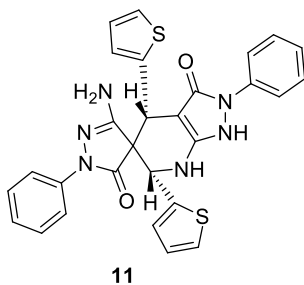
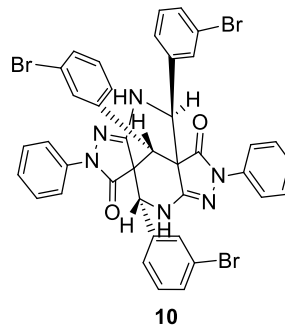
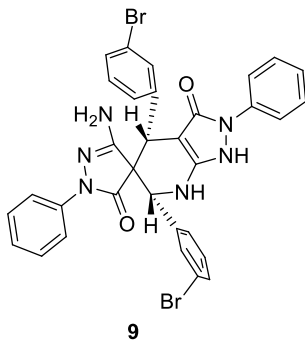
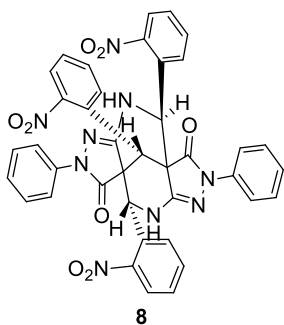
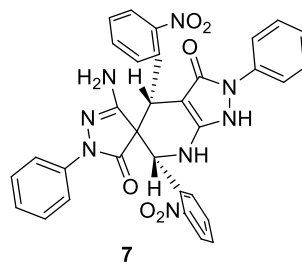
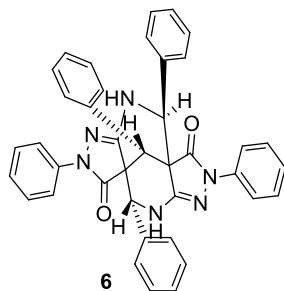
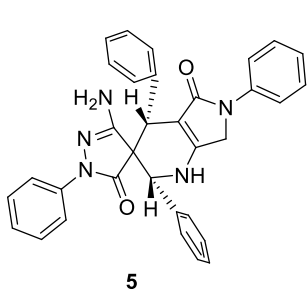


Schéma 47

Les cellules ont été mises en suspension dans un milieu de DMEM (Life Technologies, Gibco BRL, Grand Island, NY) supplémenté avec 10% de sérum bovin foetal (FBS, Hyclone), 1% de pénicilline et streptomycine (100 U / ml, Invitrogen), et plaquées dans des boîtes de culture cellulaire. Les cultures ont été maintenues à 37°C, à 5% de CO₂ et à 95% d'atmosphère humidifiée. Après avoir atteint 85% de confluence, les cellules ont été transférées dans des plaques à 96 puits ou dans une boîte de culture.

Pour les expériences de MTT, les cellules ont étéensemencées dans des plaques de culture cellulaire à 96 puits à une densité de 2×10^3 cellules par puits et laissées adhérer pendant 24h. Le milieu de culture a ensuite été remplacé par un milieu frais, contenant des composés et / ou de l'ion 1-méthyl-4-phénylpyridinium (MPP⁺, 2mM) et incubé dans un incubateur à 5% de CO₂ pendant 24h. Pendant ce temps, des composés à différentes concentrations (10, 20, 50 µM) dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été ajoutés et incubés à 37°C dans du CO₂ à 5% pendant 24 heures, pour le dosage de la prolifération cellulaire.

Les cellules ont étéensemencées dans des plaques de culture cellulaire à 6 puits, à une densité de 5×10^5 cellules / puits et on les a laissées adhérer à la surface pendant 24h. Le milieu de culture a ensuite été remplacé par un milieu frais contenant MPP⁺ (2 mM), composés **5** à **18**, et le composé **21**, à trois concentrations différentes (10, 20 et 50 µM) pendant 24 h (Schéma 47). Lorsqu'ils sont utilisés, tous les composés sont ajoutés 1 heure avant l'exposition au MPP⁺.

III.3. Évaluation de la viabilité cellulaire par dosage MTT

Le pourcentage de viabilité cellulaire a été évalué en utilisant le dosage du bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT). Après les expositions, on a ajouté du MTT (à une concentration finale de 0,5 mg / ml) à chaque puits et on a incubé les plaques pendant 3 h à 37 ° C dans un incubateur humidifié à 5% de CO₂. Le mélange réactionnel a été soigneusement éliminé et 200 µl de DMSO ont été ajoutés à chaque puits.

La plaque a été agitée à température ambiante pendant 1 h, puis l'absorbance a été mesurée à 570 nm et 630 nm en utilisant un lecteur de microplaque (Versa Max, Molecular Devices, USA). Le pourcentage de survie a été tracé par rapport aux cellules témoins du véhicule, qui ont été normalisées à 100% de survie.

III.4. Étude de viabilité cellulaire

MPTP (1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine) et La mort cellulaire induite par MPP⁺ (1-méthyl-4-phénylpyridinium) sont les modèles les plus courants de comprendre la maladie de Parkinson (MP). La MPTP se métabolise en MPP⁺ qui est un cation toxique avec une réaction qui est catalysée par la monoamine oxydase B (MAOB) dans les cellules gliales, MPP⁺, interagit avec «complexe I» dans la chaîne de transport des électrons dans la substance noire.¹⁴²Après qu'il soit pris dans la cellule par le transporteur de la dopamine, il provoque la mort des cellules dopaminergiques. La production des radicaux libres qui suivent le MPP⁺ augmentent la mort cellulaire, induisant ainsi une mort neuronale et un syndrome ressemblant à laMP. À la suite de la perte de neurones dopaminergiques, le contrôle cortical des mouvements est détruit et les symptômes de Parkinson se manifestent chez l'homme.¹⁴³

En effet, MPP⁺ peut inhiber sélectivement et potentiellement le complexe I de la chaîne de transport d'électrons mitochondriaux, et induire un syndrome de ressemblance MP dans les animaux et les modèles cellulaires.¹⁴⁴ Par conséquent, il est souvent utilisé comme neurotoxine classique pour étudier le développement de la MP.

Dans la présente étude, les effets neuroprotecteurs des composés que nous avons synthétisés (schéma 47), ont été évalués dans un modèle de maladie de Parkinson cellulaire largement utilisé, dans lequel la neurotoxicité était induite par MPP⁺ dans des cellules SH-SY5Y cultivées.

Nous avons constaté que le traitement des cellules SH-SY5Y par les spiropyrazolones synthétisées en différentes concentrations (10, 20, 50 µM), montre que ces composés utilisés à une concentration de 10 µM, augmente la viabilité cellulaire plus que les composés à des concentrations de 20 et 50 µM (Figure 47)

¹⁴²S. Przedborski, M. Vila. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2003**, 991,189.

¹⁴³D. Merims, N. Giladi. *Park. Relat Disord.* **2008**, 14, 273.

¹⁴⁴a) S. Przedborski, V. Jackson-Lewis. *Mov. Disord.* **1998**, 13, 35. b) T. P. Singer, R. R. Ramsay. *FEBS Lett.* **1990**, 274, 1.

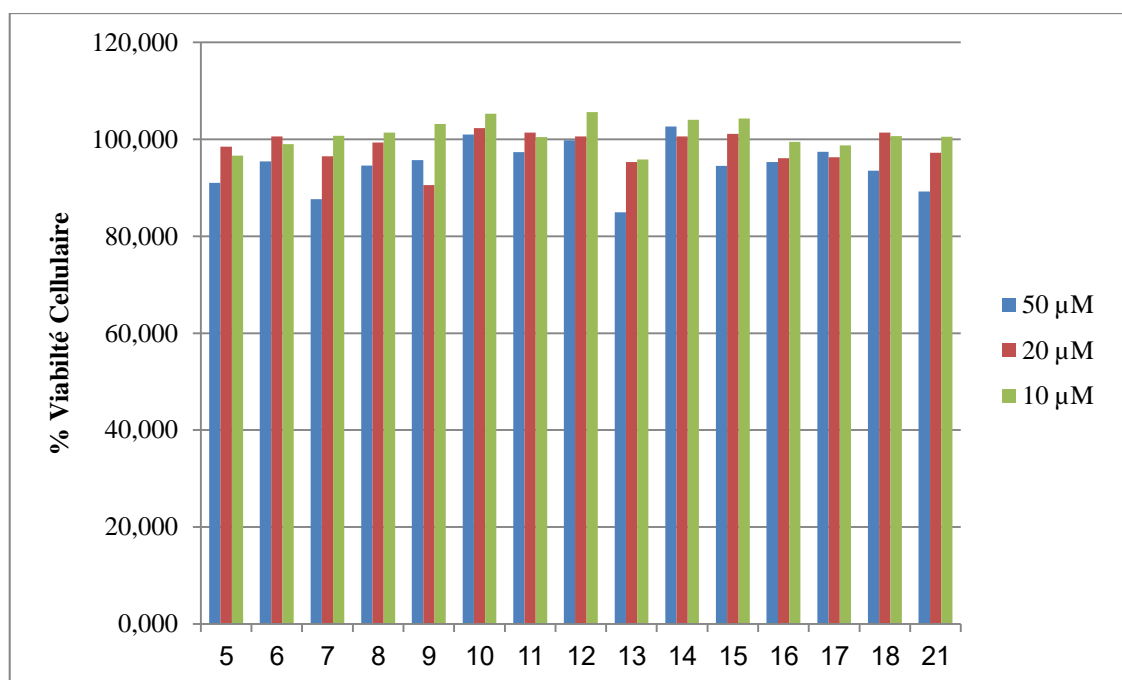


Figure 47: Effets des spiropyrazolones synthétisés sur la viabilité cellulaire des cellules SH-SY5Y exposées à diverses concentrations. Toutes les valeurs sont des moyennes \pm SD (n = 5).

Il a été bien établi que les cellules SH-SY5Y sont sensibles à la toxine neuronale dopaminergique MPP⁺.¹⁴⁵ Les cellules SH-SY5Y ont été traitées avec sept concentrations (0,1-10 mM) de MPP⁺ et testées pour la cytotoxicité après 12, 24, 36 et 48 h d'incubation par dosage MTT. Les résultats montrent que MPP⁺ a réduit la viabilité des cellules SH-SY5Y, en fonction du temps et de la concentration. 0,2 mM MPP⁺ induit une perte de viabilité cellulaire de $11,8 \pm 0,8\%$, $21,5 \pm 2,1\%$ et une perte de $27,1 \pm 2,7\%$ de la viabilité cellulaire à 24h, 36h et 48h, respectivement.

Dans une étude de Lee et *al.*¹⁴⁶ l'effet de MPP⁺ sur la viabilité des cellules SH-SY5Y a été évalué en utilisant l'essai alamar Blue. L'exposition des cellules SH-SY5Y à MPP⁺ a entraîné une diminution de la viabilité cellulaire de manière dépendante de la dose et du temps.

Puisque le traitement MPP⁺ pendant 24 heures à 2 mM de concentration était nécessaire pour produire des lésions dopaminergiques,

Dans ce contexte nous avons traité les cellules SH-SY5Y avec les concentrations des spiropyrazolones (10, 20, 50 µM) puis traitées avec MPP⁺ (2 mM) pendant 24 heures, pour

¹⁴⁵J. Jouha, M. Loubidi, J. Bouali, S. Hamri, A. Hafid, F. Suzenet, G. Guillaumet, T. Dagcı, M. Khouili, F. Aydın, L. Saso, G. Armagan, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *129*, 41.

¹⁴⁶D. Y. Lee, E. Le, K. S. Le, H. J. Lee, Y. H. Noh, D. H. Kim, J. Y. Lee, S. H. Cho, O. J. Yoon, W. B. Lee, K. Y. Kim, Y. H. Chung, S. S. Kim. *Eur. J. Cell. Biol.* **2008**, *87*, 389.

déterminer la mort des cellules dopaminergiques induite par MPP⁺, et pour évaluer les effets protecteurs potentiels des composés nouvellement synthétisés contre MPP⁺.

Nous avons constaté que d'après les résultats obtenus représentés dans le diagramme ci-dessous (Figure 48), qu'il y a une augmentation de la viabilité cellulaire de manière dépendante de la dose donc les spiropyrazolones synthétisés protègent considérablement contre la neurotoxicité induite par le MPP⁺.

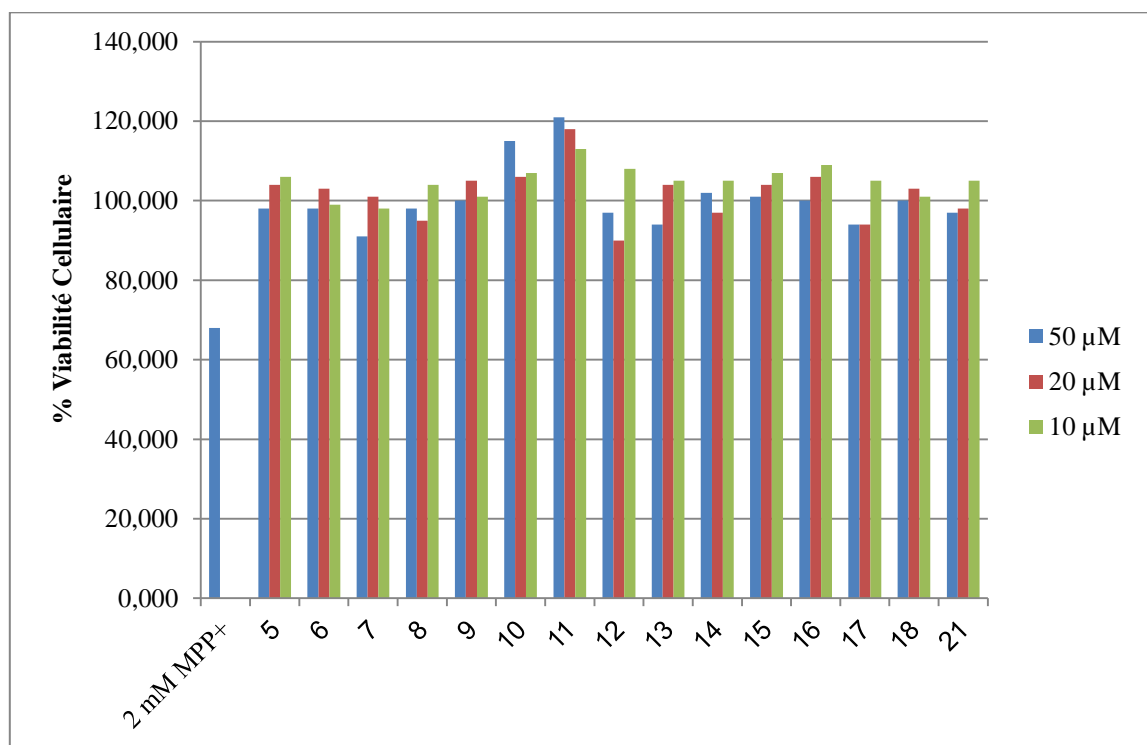


Figure 48 : Effets des spiropyrazolones synthétisés sur la viabilité cellulaire induite par MPP⁺ dans la mort cellulaire dopaminergique.

De plus, tous les spiropyrazolones synthétisés présentent une neuroprotection très intéressantes notamment, les spiropyrazolones **10**, **12**, **14** et **15** fournissent une neuroprotection entre **28,38%** et **52,67%** avec toutes les concentrations utilisées 10, 20, et 50 μM (Tableau 9 et figure 49).

Ainsi ces résultats montrent que les spiropyrazolones synthétisés sont capables d'inhiber la toxicité induite par le MPP⁺. Dans ces conditions, le MPP⁺ perd sa capacité à provoquer la mort des neurones. Au vu des différents résultats obtenus, nous pensons que la neuroprotection des spiropyrazolones est due à leur capacité à diminuer la concentration de la toxine neuronale dopaminergique MPP⁺.

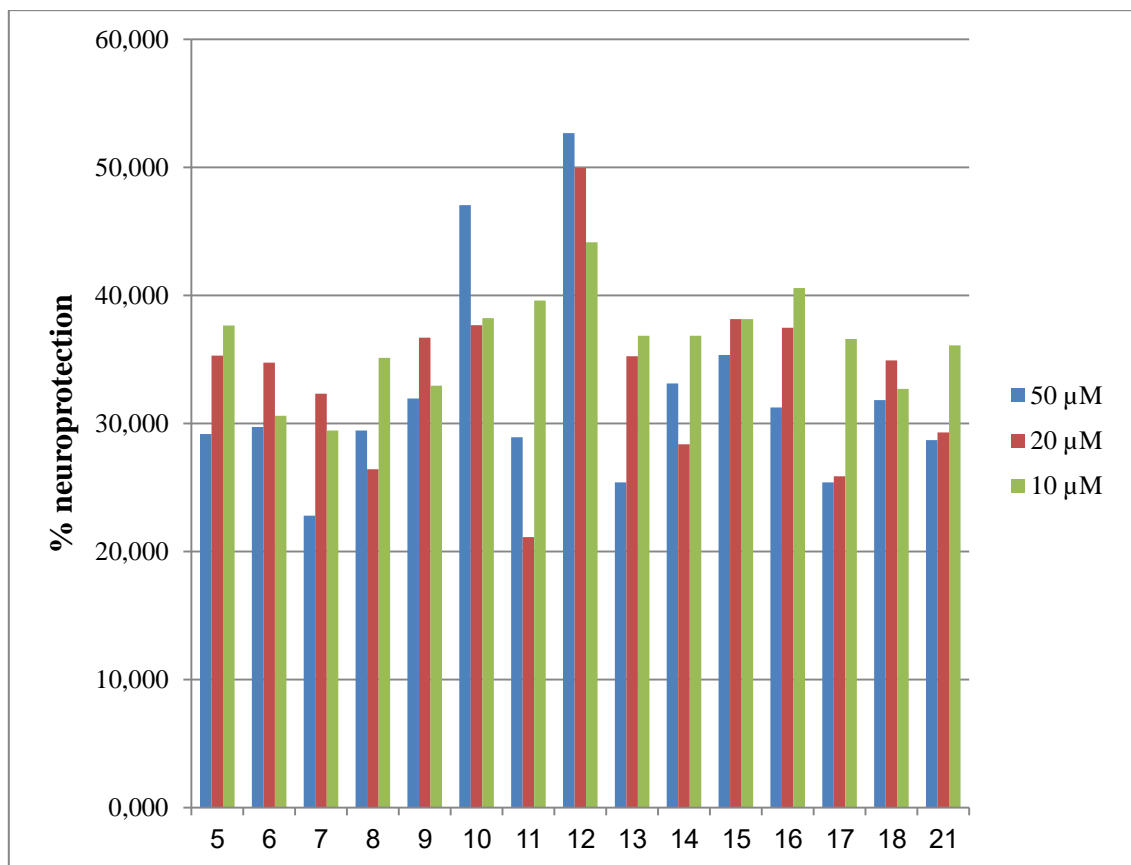
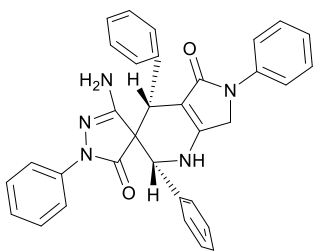
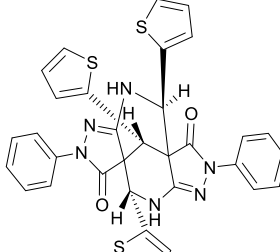
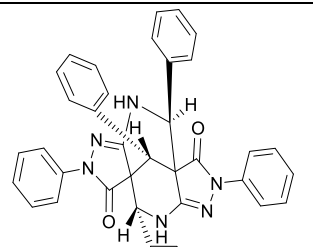
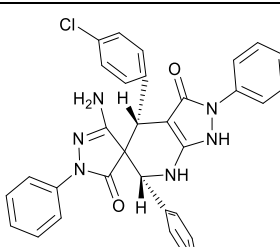
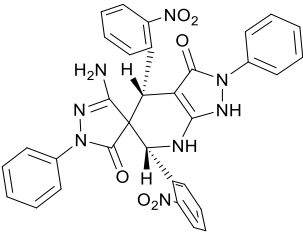
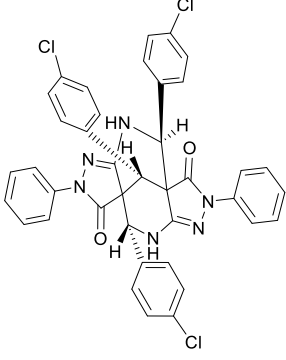
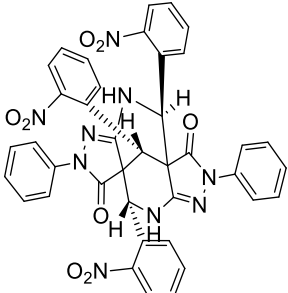
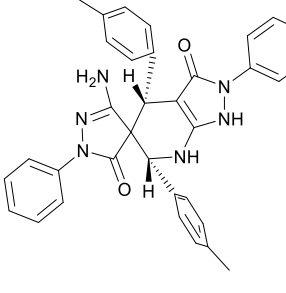
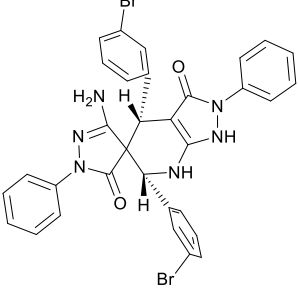
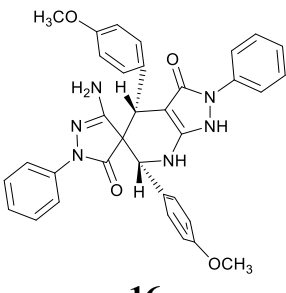
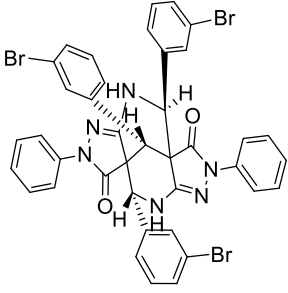
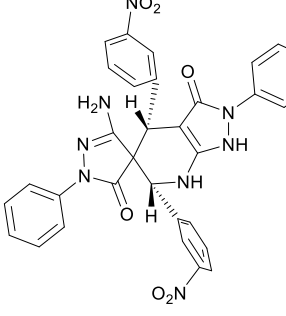
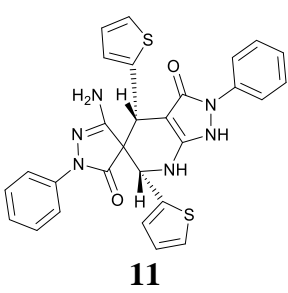
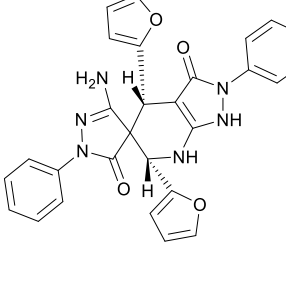
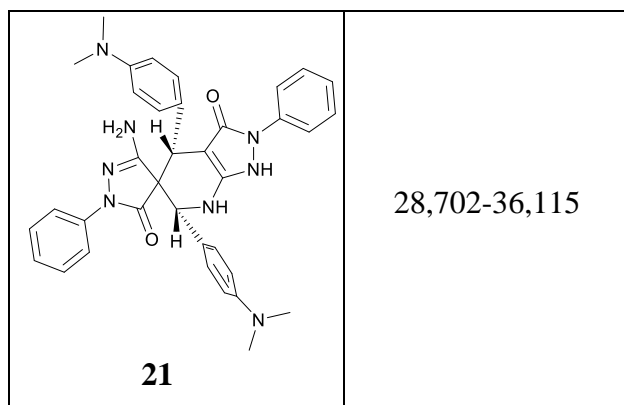


Figure 49. la neuroprotection des spiropyrazolones synthétisés

Tableau 9. Le pourcentage de neuroprotection induite par les spiropyrazolones synthétisés contre la neurotoxicité induite par MPP⁺ dans des cellules SH-SY5Y.

composé	%Neuroprotection	composé	%Neuroprotection
 <p>5</p>	29,189-37,658	 <p>12</p>	44,151-52,674
 <p>6</p>	29,730-34,763	 <p>13</p>	25,401-36,846

 <p style="text-align: center;">7</p>	22,804-32,328	 <p style="text-align: center;">14</p>	28,377-36,846
 <p style="text-align: center;">8</p>	26,429-35,141	 <p style="text-align: center;">15</p>	35,358-38,145
 <p style="text-align: center;">9</p>	31,949-36,711	 <p style="text-align: center;">16</p>	31,245-40,580
 <p style="text-align: center;">10</p>	37,685-47,046	 <p style="text-align: center;">17</p>	25,401-36,602
 <p style="text-align: center;">11</p>	21,126-39,606	 <p style="text-align: center;">18</p>	31,841-34,925



IV. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons montré les effets neuroprotecteurs des différents composés spiropyrazolones dans un modèle *in vitro* de mort cellulaire dopaminergique, en utilisant la lignée cellulaire de neuroblastome humain SH-SY5Y.

Les résultats de ces études montrent que ces composés hétérocycliques spiropyrazolones, jouent un rôle important dans la neuroprotection dopaminergique, nous suggérons que ces composés, en particulier les plus actifs, puissent être utilisés pour des nouvelles thérapies potentielles dans le traitement de la maladie de Parkinson.

Partie II :
Synthèse de nouveaux composés
pyrazolophosphonates

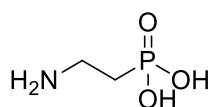
Chapitre I :
Rappels bibliographiques sur
les organophosphorés

I. Introduction

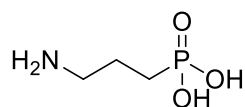
Le phosphore joue un rôle de tout premier plan dans la chimie du vivant, entrant aussi bien dans la composition de lipides, d'acides nucléiques ou des tissus osseux. L'immense majorité des composés organiques du phosphore sont en fait des dérivés de l'acide phosphorique H_3PO_4 .

C'est pourquoi les composés naturels porteurs d'une liaison phosphore carbone sont très peu répandus dans la nature, et leur découverte remonte seulement aux années soixantes du siècle dernier.¹⁴⁷

Le premier exemple isolé de ce type de composés a été la ciliatine que l'on trouve dans la flore du rumen de mouton. Ce composé est biologiquement intéressant car il possède des propriétés neuromodulatrices et s'avère être un inhibiteur de la β -alanine et de la taurine au niveau du cortex cérébral. Son homologue supérieur (homociliatine) préparé par synthèse, est également actif sur le système nerveux central.¹⁴⁸



Ciliatine



Homociliatine

Schéma 48

Un composé organophosphoré (COP) est un type de composé organique comportant au moins un atome de phosphore lié directement à un carbone. Leur mise au point remonte aux travaux de Schader, en Allemagne, en 1934,¹⁴⁹ puis pendant la seconde guerre mondiale comme succédanés de la nicotine.

La famille des COP est constituée d'une grande diversité de structure aliphatique ou aromatique. La chimie des organophosphorés est la science correspondant à explorer les propriétés et la réactivité des organophosphorés.¹⁵⁰

¹⁴⁷ M. Horiguchi, M. Kandatsu. *Nature*. **1959**, 184, 901.

¹⁴⁸ A. Cassaigne, A. M. Lacoste, M. Tamari, E. Neuzil. *10th FEBS Meeting*, Abstr. Commun., Paris **1975**.

¹⁴⁹ F. Matsumura. *Plenum Press, New York*, **1982**, p67.

¹⁵⁰ F. J. Hurst, W. D. Arnold, D. Allen Ryan. *Chem. Engin.* **1977**. 56.

Ce sont des produits ayant de nombreuses applications en agrochimie et en médecine,¹⁵¹ et également dans le domaine des matériaux et en chimie de synthèse en tant que ligands de métaux de transition¹⁵² photoinitiateurs¹⁵³ ou retardateurs de flammes.¹⁵⁴ Ils sont également plus sinistrement connus pour être des gaz de combat d'une extrême efficacité.¹⁵⁵

II. Intérêt biologique des organophosphorés

Les organophosphorés constituent une classe importante de composés de grande activité dans différents domaines industriels, agricoles et médicales. Ces dernières années, une attention particulière a été portée à la synthèse des esters α -aminophosphonates et des acides α -aminophosphoniques qui sont connus comme analogues aux acides aminés ce qui leur donne un spectre d'activité antibiotique,¹⁵⁶ antibactérien,¹⁵⁷ antiviral¹⁵⁸ et herbicide.¹⁵⁹ Une diversité de méthodes de synthèse de ces composés a été développée.

Les organophosphorés sont utilisés actuellement dans la composition des médicaments, détergents, additifs aux dentifrices, insecticides, huiles additives, agents plastifiants, additifs, dans les carburants, agents de flottation, antioxydants, agents ignifuges agents, extractants ou complexants.¹⁶⁰

Dans le domaine phytosanitaire, les composés organophosphorés présentent typiquement des activités insecticides comme l'EPN, le dyfonate ou le trichlorfon, mais également des activités herbicides comme le clacifos, le glyphosate et ses dérivés, ou la fosamine (Schéma 49).

¹⁵¹a) M. Boyne, C. Stratton, F. Johnson, P. Tonge, *ACS Chem. Biol.* **2006**, *1*, 43. b) I. V. Magedov, M. Manpadi, S. V. Slambrouk, W. F. A. Steelant, E. Rozhkova, N. M. Przhivalskii, S. Rogelj, M. Kornienko. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5183. c) G. C. Rovnyak, R. C. Millonig, J. Schwartz, V. Shu. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 1492. d) Z. Ozdemir, B. Kandilici, B. Gumusel, U. Calis, A. Bilgin. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 373. e) E. Palaska, M. Aytemir, I. T. Uzbay, D. Erol. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 539. f) A. Sener, R. Kasimogullari, M. K. Sener, J. F. Mattes, B. Mihan, T. Tosi, D. Mondoro, M. L. McCaleb. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3920.

¹⁵² P. C. J. Kamer, P. W. N. M. Van Leeuwen, Eds.; *John Wiley and Sons, Ltd.: Pondicherry.* **2012**.

¹⁵³ L. Macarie, A. Petrean, G. Iliu, S. Iliescu, A. Popa, M. J. M. J. Abadie. *Polym. Res.* **2005**, *12*, 331.

¹⁵⁴ I. Van der Veen, J. De Boer. *Chemosphere.* **2012**, *88*, 1119.

¹⁵⁵ U. Ivarsson, H. Nilsson, J. Santesson, Eds.; *Nat. Def. Res. Esta. Umeå.* **1992**.

¹⁵⁶ B. Lejczak, P. Kafarski, H. Sztajer, P. Mastalerz. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2212.

¹⁵⁷ a) J. Grembecka, A. Mucha, T. Cierpicki, P. Kafarski, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2641. b) J. D. Moore, K. T. Sprott, P. R. Hanson. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8123. c) W. S. Liu, C. J. Rogers, A. J. Fischer, M. D. Toney. *Biochem.* **2002**, *41*, 12320.

¹⁵⁸ J. Huang, R. Chen. *Heteroatom. Chem.*, **2000**, *11*, 480.

¹⁵⁹ T. Chen, H. W. He. *J. Fluorine. Chem.*, **2006**, *127*, 291.

¹⁶⁰ J. J. Defrank, T. C. Cheng. *Bacteriol.* **1991**, *173*, 1938.

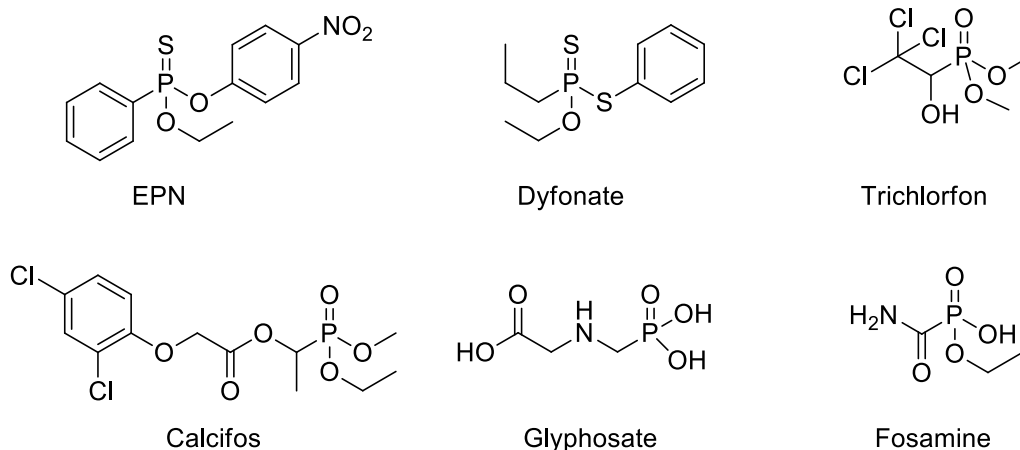


Schéma 49

Dans la littérature, les composés organophosphorés sont cités, entant qu'anti-rétroviraux, pour le traitement du VIH ou de l'hépatite C.^{161,162} Et aussi, entant qu'analogue du pyrophosphate pour le traitement de l'ostéoporose.¹⁶³ Plus encore, en tant que mimes de glutamate pour le traitement de diverses maladies neurologiques comme la schizophrénie ou la maladie de Parkinson (Schéma 50).¹⁶⁴

Dans ces composés, le groupement organophosphoré se comporte comme un bioisostère de phosphate, d'acide carboxylique, ou encore d'alcool tertiaire, leur conférant ainsi leur activité biologique.¹⁶⁵

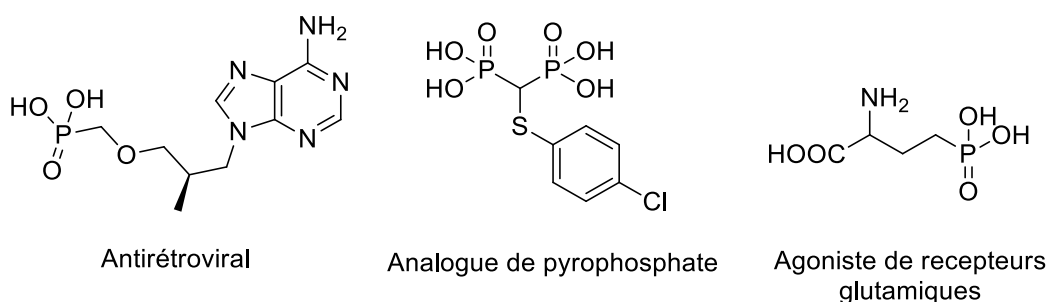


Schéma 50

¹⁶¹ a) H. B. Fung, E. A. Stone, F. Piacenti. *J. Clin. Pharm. Ther.* **2002**, 24, 1515. b) X. C. Sheng, A. Casarez, R. Cai, M. O. Clarke, X. Chen, A. Cho, W. E. Delaney, E. Doerffler, M. Ji, M. Mertzman, R. Pakdaman, H. J. Pyun, T. Rowe, Q. Wu, J. Xu, C. U. Kim. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 1394.

¹⁶² X. C. Sheng, A. Casarez, R. Cai, M. O. Clarke, X. Chen, A. Cho, W. E. Delaney, E. Doerffler, M. Ji, M. Mertzman, R. Pakdaman, H. J. Pyun, T. Rowe, Q. Wu, J. Xu, C. U. Kim. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 1394.

¹⁶³ H. Murakami, N. Takahashi, S. Tanaka, I. Nakamura, N. Udagawa, S. Nakajo, K. Nakaya, M. Abe, Y. Yuda, F. Konno, A. Barbier, T. Suda. *Bone*. **1997**, 20, 399.

¹⁶⁴ C. Selvam, C. Goudet, N. Oueslati, J. P. Pin, F. Acher. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 4656.

¹⁶⁵ D. Virieux, J. N. Volle, N. Bakalara, J. L. Pirat. *In. Top. Curr. Chem.* **2015**, 360, 39.

Les composés organophosphorés se répartissent en différentes classes selon le degré d'oxydation du phosphore et la nature des substituants, notamment la présence d'un atome d'oxygène ou d'un autre chalcogène.¹⁶⁶

Les propriétés physico-chimiques (volatilité, stabilité, solubilité ...etc.), la toxicité et le devenir dans l'environnement des organophosphorés sont très variables et dépendent de la nature de substituants (atomes de soufre, oxygène, chaînes latérales ...etc.) liés à l'atome de phosphore et du type de liaisons (covalente ou double liaison) liant le ou les substituants à l'atome de phosphore.

Les composés organophosphorés constituent une importante classe de substances chimiques organiques, ils ont en commun une certaine propriété comme la liposolubilité. En solution, ces composés existent sous la forme d'un équilibre de deux formestautomères :

- une forme pentavalente tetracoordonnée (forme phosphonate) ;
- une forme trivalente tricoordonnée (forme phosphite).

La forme phosphonate est majoritaire dans cet équilibre et détermine globalement le comportement chimique de ces composés. Cependant, l'équilibre peut être déplacé vers la forme phosphite lorsqu'en présence d'une base (la pyridine ou la triéthylamine), le phosphite est piégé par un réactif approprié (par exemple un agent de silylation) ou lorsqu'elle est consommée dans une autre réaction. Grâce à cette propriété, les H-phosphonates combinent la chimie des composés du phosphore III et du phosphore V.

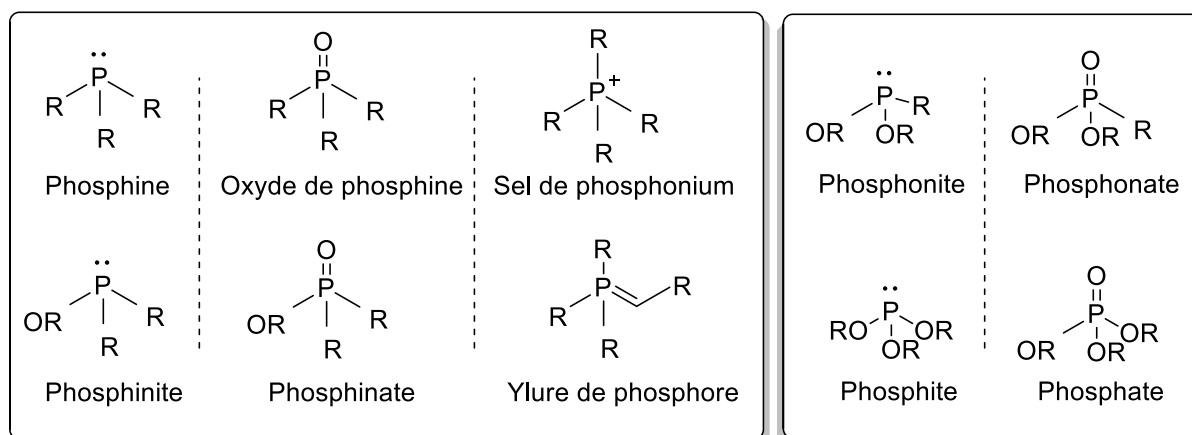


Schéma 51. Classes de composés organophosphorés

¹⁶⁶ C. M. Timperley, J. Tattersall. *Best. Syn. Meth. Org. phos.chem.* **2013**, 1.

III. Les phosphonates

Les phosphonates phosphoniques ou acides phosphoniques sont des composés organiques contenant le groupement C-PO(OH)₂ ou groupes C-PO(OR)₂ (où R = alkyle, aryle). Ce sont des dérivés de l'acide phosphonique (schéma 52). Ils ont à l'inverse des phosphates une tendance à former des liaisons -C-P, ce qui les rend résistants à l'hydrolyse.¹⁶⁷

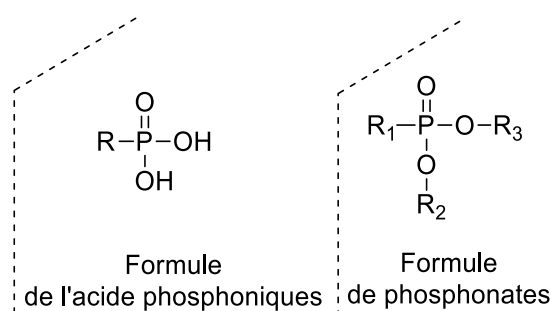


Schéma 52. La structure générale des phosphonates.

III.1. Les phosphonates naturels

Les composés possédant une liaison carbone-phosphore dans leur structure sont rares parmi les produits naturels. À ce jour, seulement une vingtaine de phosphonates naturels ont pu être isolés et caractérisés. Ces molécules ont été extraites de microorganismes mais aussi d'animaux terrestres et aquatiques. Cette rareté les rend uniques puisque la plupart parmi eux présentent une activité biologique importante et intéressante.¹⁶⁸

Il est à noter que des propriétés antibactériennes, antivirales, antibiotiques, pesticides ou anticancéreuses ont été observées chez plusieurs composés de ce type. Leur activité serait reliée à la nature relativement inerte de la liaison C-P mais aussi aux similitudes physiques entre les groupements acides phosphoniques, les phosphates et les acides carboxyliques. Cette dernière caractéristique expliquerait leur capacité à inhiber plusieurs processus enzymatiques.¹⁶⁹Le premier composé naturel isolé contenant une liaison C-P est l'acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP) (Schéma 53). Il a été isolé d'un protozoaire pour la première fois en 1959. C'est un des phosphonates les plus abondants dans la nature. En effet, depuis sa

¹⁶⁷ a) A. S. Lystsas, J. P. Carrel, L. Cloups, S. S. Lombardit. *Presse Med.* **2005**, *34*, 1073. b) H. Fleisch. *Endocr Rev.* **1998**, *19*, 80. c) M. J. Rogers. *Calcif.Tissue.***2004**, *75*, 451.

¹⁶⁸ S. C. Fields, *Tetrahedron.* **1999**, *55*, 12237.

¹⁶⁹ S. Freeman, H. M. Seidel, C.H. Schwalbe, J. R. Knowles, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *772*, 8149.

découverte, il a été isolé de plusieurs autres sources différentes (invertébrés marins, microorganismes, humains).¹⁷⁰

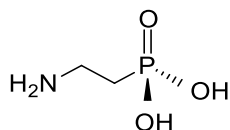


Schéma 53.Acide 2-aminoéthylphosphonique (AEP).

III.2. Synthèses des phosphonates

Ces dernières années, une attention particulière a été portée à la synthèse des phosphonates et en particulier les esters α -aminophosphonates et des α -hydroxyphosphonates en raison de leur activité biologique potentielle, ainsi comme substrat aux multiples possibilités pour la synthèse des dérivées organophosphorés. Récemment, diverses méthodes ont été rapportées dans la littérature pour la synthèse des α -aminophosphonates et des α -hydroxyphosphonates. Ces méthodes sont décrites en bref ci-dessous.

III.2.1. Le procédé Michaelis-Arbuzov

La réaction de Michaelis-Arbuzov est une réaction chimique d'un trialkyl-phosphite et un halogénure alkyle pour conduire à la formation d'un phosphonate (Schéma 54).

La réaction a été découverte par August Michaelis en 1898,¹⁷¹ et considérablement exploré par la suite par Aleksandr Arbuzov.¹⁷² Elle est utilisée souvent pour la synthèse de divers phosphonates, phosphinates, et oxydes de phosphine. Ainsi, plusieurs revues ont été éditées dans le cadre de la synthèse d'hétérocycles phosphorés.¹⁷³

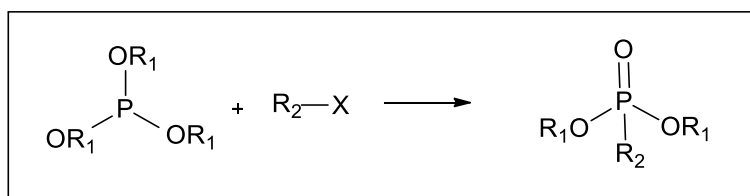


Schéma 54. Réaction de Michaelis-Arbuzov

¹⁷⁰ E. Roberts, J. S. Kittredge. *Science*. **1969**, 164, 37.

¹⁷¹ A. Michaelis, R. Kaehne. *Jubilee*. **1898**, 31, 1048.

¹⁷² a) A. E. Arbuzov. *J. Russ. Phys. Chim. Soc.* **1906**, 38, 687. b) A. E. Arbuzov. *Chim.Zentr.* **1906**, 1639.

¹⁷³ a) B. A. Arbuzov. *App. pur.Chim.* **1964**, 9, 307. b) A. K. Bhattacharya, G. Thyagarajan. *Chim.Inv.* **1981**, 81, 415.

La réaction de Michaelis-Arbuzov se fait entre un nucléophile le phosphite, avec un électrophile qui est l'halogénure d'alkyle.

L'attaque du doublet non liant du phosphite attaque l'halogénure d'alkyle, suivant une réaction de substitution nucléophile de type S_N2 , formant ainsi l'intermédiaire réactionnel, le trialkoxy-phosphonium. L'attaque par la suite de l'anion halogénure, sur un des groupes alkoxy, permet d'avoir le phosphonate et l'halogénure d'alkyle (Schéma 55).¹⁷⁴

Des triaryliques phosphites, qui ne réagissent pas en deuxième étape, en tant qu'intermédiaire réactionnel de la réaction de Michaelis-Arbuzov, se transforment en sels stables de phosphonium. De même, les groupes fonctionnels d'halogénures d'aryle et du vinyle ne réagissent pas avec les phosphites.

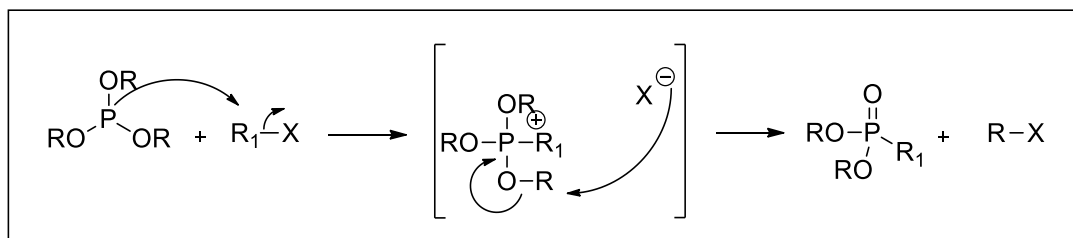


Schéma 55.

III.2.1. Le procédé Kabachnik-Fields

Plusieurs stratégies de synthèse est décrites dans la littérature pour la préparation des produits dérivés de phosphonates.¹⁷⁵

Au début des années 1950, Kabachnik¹⁷⁶ et Fields¹⁷⁷ ont montré indépendamment que la réaction one pot d'une amine, d'un composé carbonylé et d'un phosphite de dialkyle ou trialkyle mène à la formation de dérivés α - aminophosphonates. Cette réaction porte aujourd'hui le nom de ses créateurs et est donc connue sous le nom de réaction de Kabachnik-Fields (Schéma 56).

¹⁷⁴ S. R. Landuer, H. N. J. Rydon. *Chim.Soc.* **1953**, 2224.

¹⁷⁵ V. P. Kukhar. *Russ. Chem. Rev.* **1987**, 56, 859.

¹⁷⁶ M. I. Kabachnik. T. Y. Medved. *Dokl.Akad.Nauk.SSSR.***1952**, 83, 689.

¹⁷⁷ E. K..Fields..*J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 1528.

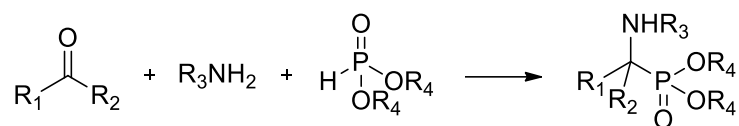


Schéma 56. Réaction de Kabachnik-Fields.

La série de composés qui peut être impliquée dans cette synthèse est extrêmement large. La réaction peut être effectuée avec ou sans catalyseur, avec ou sans solvant. Il y a plusieurs exemples de cette synthèse décrite dans la littérature. Dont le mécanisme qui est amplement développé, montre que la réaction dépend de la nature des substrats (Schéma 57). Ainsi, l'amine et le composé hydrophosphorylé forment un complexe où un des deux réactifs peut réagir avec le composé carbonyle. En plus, le déroulement de la réaction dépend de la basicité de l'amine.

Ainsi, des amines peu basiques comme l'aniline, qui peuvent agir comme donneurs de proton dans des liaisons hydrogènes, favorisent la formation de l'imine, alors que les amines alkylées comme la cyclohexamine ne forment pas d'imine.¹⁷⁸

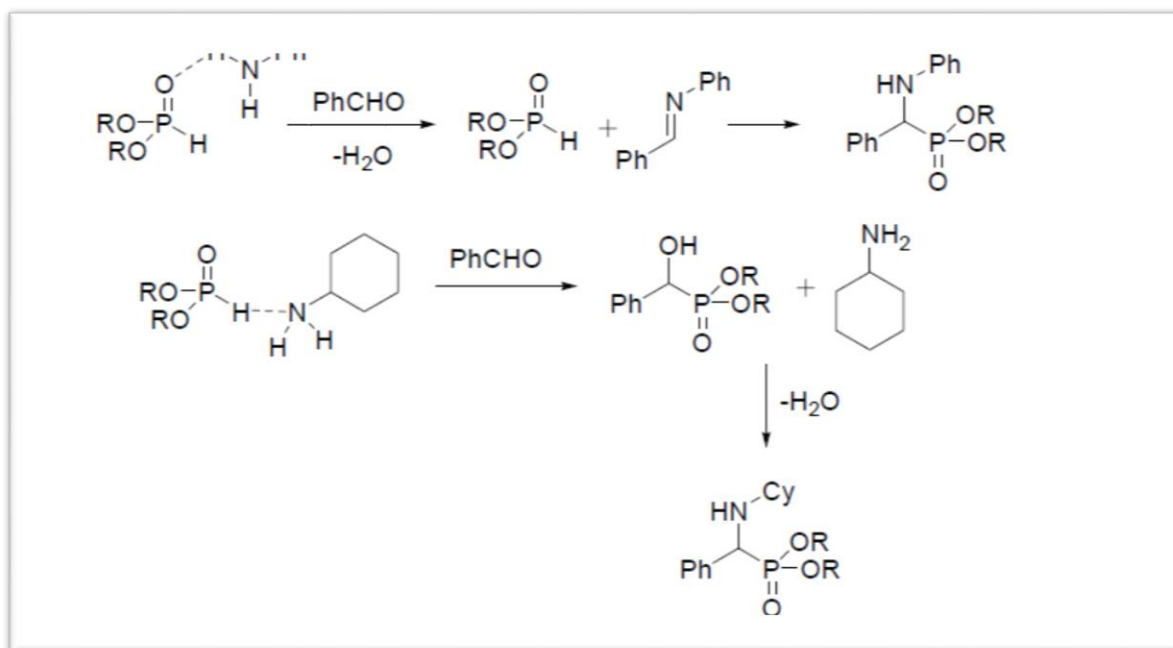


Schéma 57. Mécanisme proposé pour la réaction de Kabachnik-Fields

¹⁷⁸ R. A. Cherkasov. *Russ. Chem. Rev.* **1998**, 67, 857.

III.2.2. Réaction de Pudovik

L'addition catalysée ou non-catalysée d'un composé hydrophosphorylé sur une imine est en fait une réaction de Pudovik.¹⁷⁹ Plusieurs acides aminophosphoniques ont été obtenus par l'addition du phosphite de diéthyle sur une imine, portant un groupement benzyle, qui pourra être clivé par la suite par une réaction d'hydrogénation avec un catalyseur au palladium.

Cette réaction peut-être effectuée en présence des catalyseurs acides ou basiques ou juste en chauffant. Des exemples de cette réaction sont décrits dans la littérature et plusieurs revues y sont en partie consacrées.¹⁸⁰

La réaction de Pudovik peut aussi être activée par un acide de Lewis comme $ZnCl_2$, $PdCl_2$, $NiCl_2$, $LaCl_3$, $AlCl_3$ et CdI_2 . Ainsi, Kabachnik et *al.*¹⁸¹ ont synthétisé différents aminophosphonates par une réaction de Pudovik catalysée par de l'iodure de cadmium.

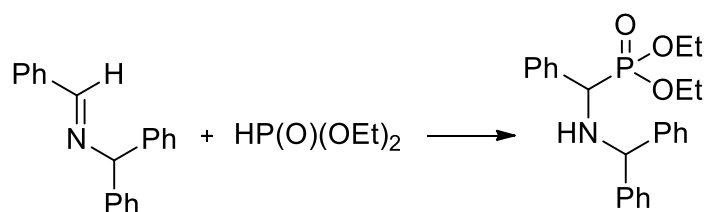


Schéma 58. Réaction de Pudovik

III.2.3. Réaction de Mitsunobu

La Réaction de Mitsunobu est une réaction d'amination nucléophile d'un hydroxyphosphonate. Elle peut être réalisée par une réaction de Mitsunobu, soit une réaction one-pot entre un alcool, un azodicarboxylate, de la triphénylphosphine et un nucléophile (azoture d'hydrogène : HN_3).¹⁸²

¹⁷⁹ A. N. Pudovik. *Dokl.Akad.Nauk.SSSR*. **1952**, 83, 865.

¹⁸⁰ a) V. P. Kukhar. *Russ. Chem. Rev.* **1987**, 56, 859. b) R. A. Cherkasov. *Russ.Chem.Rev.* **1998**, 67, 857.

¹⁸¹ M. M. Kabachnik, T. N. Ternovskaya, E. V. Zobnina, I. P. Beletskaya. *Russ. J. Org. Chem.* **2002**, 38, 480.

¹⁸² T. Gajda, M. Matusiak. *Synth. Commun.* **1992**, 22, 2193.

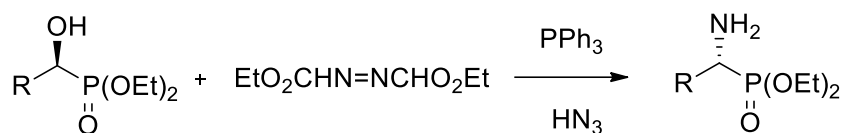


Schéma 59. Réaction de Mitsunobu

Elle conduit à l'azoture correspondant avec une inversion de configuration. L'azoture est ensuite réduit en amine par traitement avec de la triphénylphosphine et une hydrolyse aqueuse avec un rendement entre 70 et 90% selon les substituent.

IV. Synthèse des phosphonates contenant des dérivés pyrazoliques

Comme nous l'avons déjà souligné dans la première partie, les pyrazoles sont des hétérocycles omniprésents dans les industries agrochimique et pharmaceutique. De même, les composés organophosphorés sont remarquables pour leur activité biologique,¹⁸³ surtout quand ils sont associés à divers hétérocycles.¹⁸⁴ Un des plus importants de ces hétérocycles bioactifs est le cycle pyrazole.¹⁸⁵

D'autre part, les groupes fonctionnels : le phosphonyle et le phosphoryle, pourraient réguler des fonctions biologiques importantes.¹⁸⁶

Bien que certaines approches synthétiques ont été rapportés, permettant d'introduire les groupes phosphonyle et phosphoryle sur les cycles pyrazolique en position C,¹⁸⁷ il reste encore beaucoup de possibilité recherche active dans cette zone.

Les pyrazoles phosphonylés ont donc été l'objet d'une certaine attention, et leur structure peut être retrouvée dans 4 brevets, où ils sont décrits en tant qu'agents phytosanitaire (Schéma 60).¹⁸⁸

¹⁸³ a) F. Caruso, M. Rossi, J. Tanski, C. Pettinari, F. Marchetti. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1737. b) B. Nawrot, K. Sipa. *Curr.Top.Med. Chem.* **2006**, *6*, 913.

¹⁸⁴a) M. K. Chung, J. C. Kim, S. S. Han. *Food. Chem. Toxicol.* **2002**, *40*, 723. b) T. E. Ali, S. M. Abdel-Karim. *Heterocycles*.**2012**, *85*, 2073.

¹⁸⁵a) D. V. Dekhane, S. S. Pawar, S. Gupta, M. S. Shingare, C. R. Patil, S. N. Thore. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6527. b) G. S. Hassan, H. H. Kadry, S. M. Abou-Seri, M. M. Ali, A. E. Mahmoud. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6808.

¹⁸⁶a) W. M. Abdou, M. D. Khidre, R. E. Khidre. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 526. b) A. Kraszewski, J. Stawinski. *Trends. Org. Chem.* **2003**, *10*, 1.

¹⁸⁷a) S. A. Abdel-Ghaffar, T. E. Ali, K. M. El-Mahdy, S. M. Abdel-Kariem. *Eur. J. Chem.* **2011**, *2*, 25. b) P. Conti, A. Pinto, L. Tamborini, V. Rizzob, C. De Micheli. *Tetrahedron*.**2007**, *63*, 5554. c) T. E. Ali. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4539.

¹⁸⁸P. C. Miller, J. M. Molyneaux. *Org. Prep. Proced.Int.* **1999**, *31*, 295.

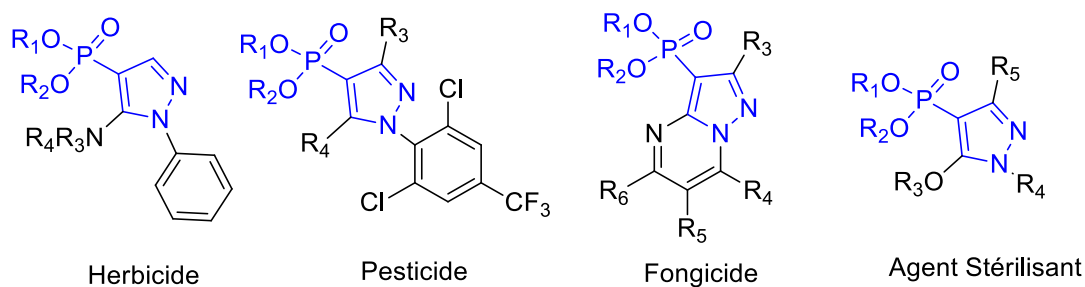


Schéma 60

Sanders et Simpson, en 1963, ont rapporté le premier exemple de cycloaddition 1,3-dipolaire permettant d'accéder au motif phosphonylpyrazole. Ces auteurs décrivent la réaction d'un alcyne terminal phosphonylé avec un large excès de diazométhane pour donner le pyrazole méthylé avec un rendement modeste de 28% (Schéma 61).¹⁸⁹

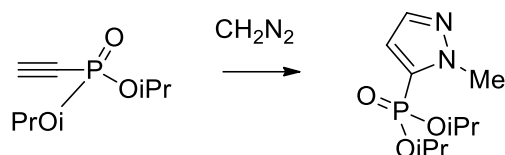


Schéma 61

Dhiab Jabli *et al.*,¹⁹⁰ ont décrit une synthèse originale d'aminopyrazoles phosphonates. En utilisant comme substrat de base le malononitrile, un ortho-ester et une phosphonohydrazine.

Ils ont synthétisé une série de 5-aminopyrazoles *N*-phosphonates, par action de *O,O*-diphényléster de l'acide thiophosphorohydrazidique, et d'ester diéthylique de l'acide phosphorohydrazidique sur les ylidènes (Schéma 63)

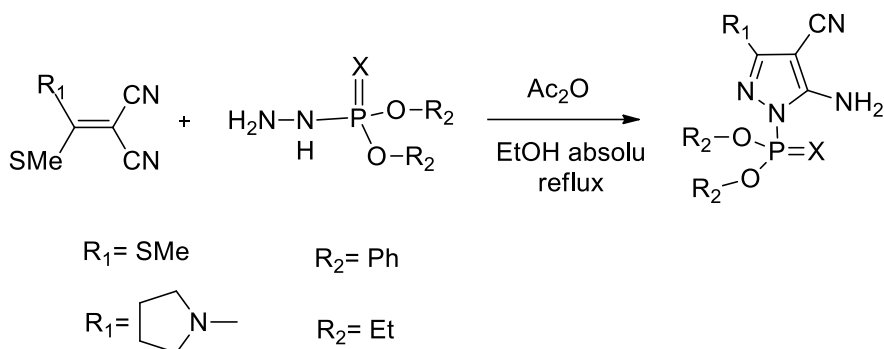


Schéma 62

¹⁸⁹ B. C Saunders, P. Simpson. *J. Chem. Soc.* **1963**, 3351.

¹⁹⁰ D. Jabli, K. Dridi, M. L. Efrif. *J. Soc. Chim. Tunis*, **2014**, 16, 1.

Wu *et al.*,¹⁹¹ ont rapportés la synthèse de nouveaux dérivés de pyrazole amide porteurs d' α -aminophosphonates en plusieurs étapes, et leurs évaluations en tant qu'agents antiviraux. Ces composés sont synthétisés par la réaction de l'amine appropriée avec l'acide carboxylique ou en traitant l'amine avec du chlorure d'acyle (Schéma 63).

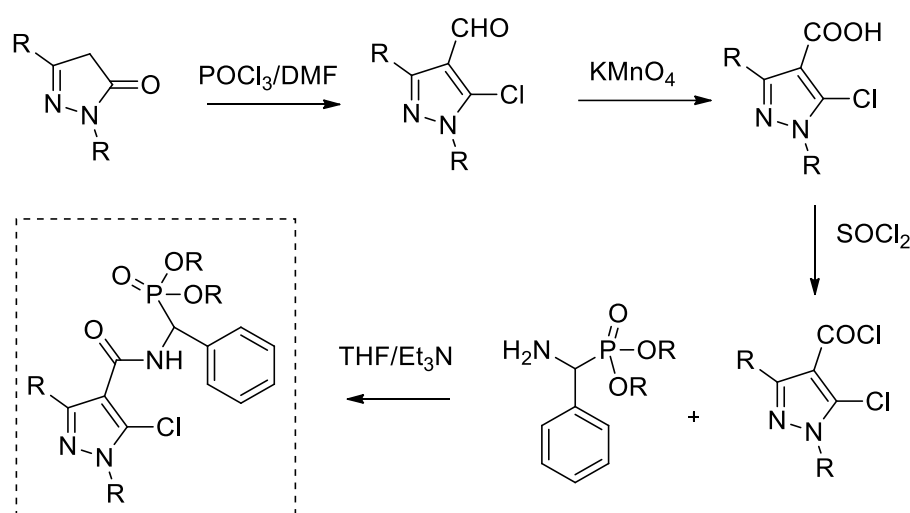


Schéma 63

Esther Rani *et al.*¹⁹² ont synthétisé des nouvelles 5-pyrazolones incorporant des 1,3,4-oxadiazole sulfonylphosphonates avec des rendements allant de 65% à 75%, utilisant une réaction de Kabachnik-Fields qui implique la condensation d'amine, d'aldéhydes et de dialkylphosphate *via* des intermédiaires de base de Schiff.

Les α -aminophosphonates synthétisés ont été testés pour leur activité antibactérienne et antifongique et ont montré une activité biologique. Ces composés peuvent servir d'inhibiteurs puissants d'enzymes humaines et bactériennes, ainsi que dans la lutte contre les pathologies ou les infections.

¹⁹¹ L. Wu, B. Song, P. S. Bhadury, S. Yang, D. Hu, and L. Jin. *J. Heterocyclic. Chem.* **2011**, 48, 389.

¹⁹² V. Esther Rani, L. K. Ravindranath. *Am. J. Org. Chem.* **2016**, 6, 1.

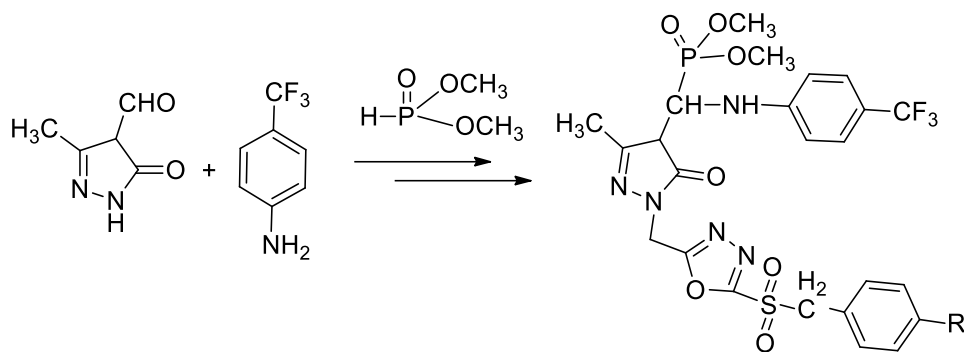


Schéma 64

Chun-wei et *al.*¹⁹³ ont conçu et synthétisé une série des composés d'arylpirazole contenant le fragment aminophosphonate par une série des réactions commencer par la préparation de l'arylpirazol. Ce dernier est traité par le benzaldehyde *via* une réaction de condensation afin de donner l'imine.

Finalement le produit arylpyrazolo-aminophosphonate est obtenu par la condensation de diéthylphosphite avec l'imine selon la réaction de Pudovick.

Pour étudier la relation structure-activité, ils ont introduit différents substituants sur le cycle aromatique de l'armino-pyrazole. Par la suite, les activités insecticides ont été évaluées (Schéma 65).

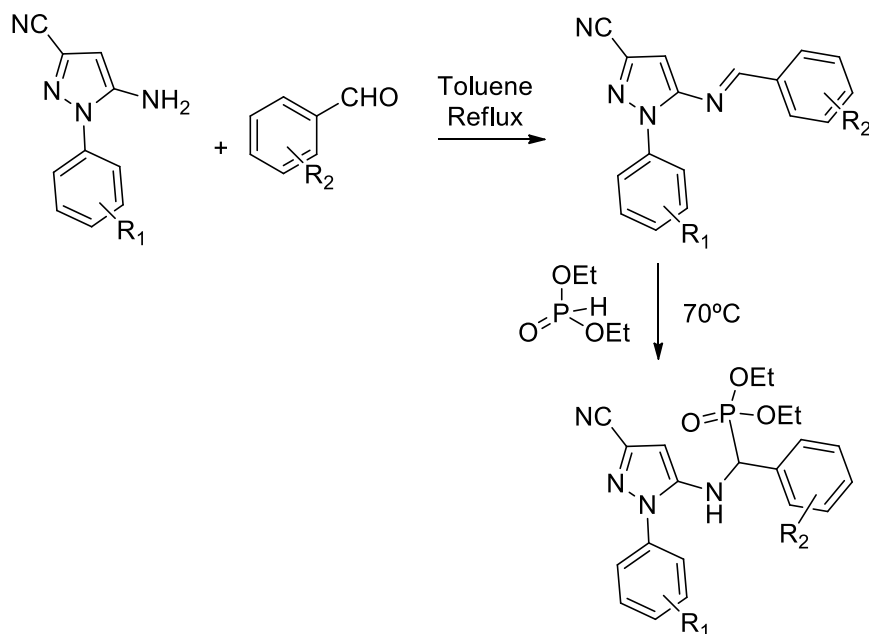


Schéma 65

¹⁹³ G. Chun-wei, W. Shao-Hua, C. Fu-li, H. Zhen-yu, F. Xiao-huan, R. Wan. *Phos.Sul.Sil.Rel. Elem.* **2016**, *191*, 1250.

V. Conclusion

Les phosphonates sont des produits solubles dans l'eau, Ils ne sont pas volatiles et sont assez solubles en général dans les solvants organiques. Ce sont des agents efficaces de chélation qui se lient fortement aux ions métalliques, leurs propriétés de chélation ont permis à l'élaboration des produits utiles en industrie, tels que les inhibiteurs de corrosion, les agents tensioactifs et additifs dans la préparation des détergents.

La complexations des métaux de transition, les alcalins, les alcalinoterreux et les métaux lourds, ils sont utilisés également dans les domaines de traitement des eaux et la protection de l'environnement.

Les fonctions amines et hydroxyles liées aux phosphonates augmente leur pouvoir chélatant, et permettent l'obtention de nouvelles catégories de phosphonates notamment les α -aminophosphonates, qui trouvent des applications dans la préparation des produits pharmaceutiques de première nécessité, par exemple : ceux qui servent dans la lutte contre le cancer ou le SIDA.

Chapitre II :

Synthèse de nouveaux pyrazolophosphonates à partir de 1-phenyl-3-amino-5-pyrazolone

I. Introduction

Il y avait peu d'études sur la découverte des composés pyrazoliques contenant la fraction aminophosphonates. Motivés par les résultats obtenus précédemment, nous avons pensé que l'introduction du groupe phosphonates dans des dérivés pyrazoliques pourrait aboutir à une nouvelle structure avec de bonnes activités biologiques.

Dans le cadre de nos travaux, nous avons conçu et synthétisé une série de composés à structure de base le squelette pyrazole, contenant la partie phosphonates. Au cours de ce chapitre nous décrivons la synthèse des nouveaux pyrazolo-phosphonates.

Nous nous sommes, tout d'abord, intéressés à l'aspect synthétique de ces composés en utilisant la réaction de Kabachnik-Fields, en faisant réagir 1-phényl-3-amino-5-pyrazolone sur un aldéhyde aromatique et la triéthylphosphite en présence d'un organocatalyseur L-proline.

Avant de présenter notre travail porter sur l'utilisation d'organocatalyseur en synthèse organique stéréosélective. En introduction, nous ferons un bref rappel bibliographique sur les organocatalyseurs.

II. Rappel bibliographique sur les organocatalyseurs

L'organocatalyse utilise de petites molécules organiques principalement composées de C, H, O, N, S et P pour accélérer les réactions chimiques. Les organocatalyseurs sont capables d'activer différentes fonctions chimiques grâce à leurs sites activants. L'utilisation d'organocatalyseurs offre plusieurs avantages en plus de respecter certains principes de la chimie verte.

Ils ont notamment pour avantages l'absence de sensibilité à l'humidité et à l'oxygène, leur disponibilité immédiate, leur faible coût et leur faible toxicité, ce qui confère un avantage direct considérable dans la production d'intermédiaires pharmaceutiques par rapport aux catalyseurs à base de métaux de transition.

Les différents modes d'activation peuvent être classés selon leur nature chimique : base de Lewis, base de Brønsted.¹⁹⁴ Acide de Brønsted, acide de Lewis.^{195,196} Cette classification a été introduite par Benjamin List en 2005.¹⁹⁷

¹⁹⁴ A. Ting, J. M. Goss, N. T. McDougal, S. E. Schaus. *Spri.Berl.* **2009**, 145.

¹⁹⁵ O. Sereda, S. Tabassum, R. Wilhelm. *Spri.Berl.* **2009**, 349.

¹⁹⁶ T. Werner, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 1469.

Certains catalyseurs sont dits « multifonctionnels », c'est-à-dire qu'ils présentent deux ou plusieurs groupements fonctionnels distincts capables d'interagir soit en tant qu'acide soit en tant que base avec les substrats mis en jeu. Les premières réactions organocatalytiques énantiosélectives avaient déjà été décrites au début du XXe siècle, et passent par l'activation d'un carbonyle *via* une énamine.

D'autres réactions étonnantes et sélectives, telles que la synthèse catalysée par la proline de structures partielles de stéroïdes optiquement actives, ont rapportées, simultanément et indépendamment, en 1971 par deux groupes de recherche industrielle, Hajos et Parrish d'une part, et Eder, Sauer et Wiechert d'autre part.¹⁹⁸ Ils ont effectué une réaction de condensation aldolique intramoléculaire de la cétone **66.1**, catalysée par la L-proline, pour former le produit céto-alcool correspondant **66.2**.

Par la suite, la cyclohexénone **66.3** peut être facilement obtenue par une réaction de déshydratation acido-catalysée. La L-proline était utilisée pour l'annélation de Robinson asymétrique d'une tricétone achirale. Un précurseur de stéroïde a ainsi été obtenu avec un rendement de 100 % et un excès énantiomérique de 93 % (Schéma 66).

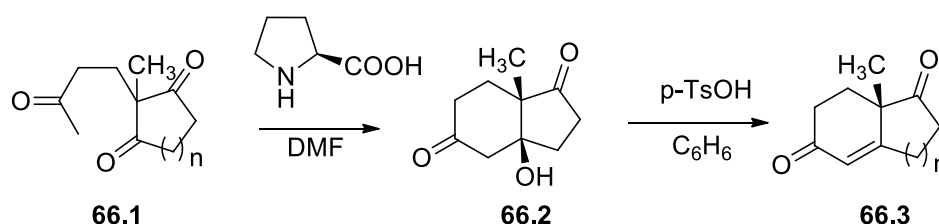


Schéma 66

Dans les années qui ont suivi, cette réaction a été largement utilisée pour la synthèse de divers produits naturels. Malgré cela, la large utilisation de la L-proline et des amines, comme catalyseurs dans la synthèse asymétrique, s'est développée après deux études préliminaires, respectivement, de List, Lerner et Barbas,^{199,200} d'une part, et de MacMillan²⁰¹ d'autre part. Quant à List, il a présenté des condensations aldoliques directes entre l'acétone et divers aldéhydes, réactions catalysées par la L-proline (Schéma 67).

¹⁹⁷ J. Seayad, B. List, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 719.

¹⁹⁸ a) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, *10*, 496. b) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1615.

¹⁹⁹ a) B. List, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9336. b) J. Liebig, *Ann. der. Chem. und. Phar.* **1860**, *13*, 246.

²⁰⁰ G. Bredig, P. S. Fiske. *Bio.chem. Z.* **1912**, *7*.

²⁰¹ D. W. MacMillan. *Nature.* **2008**, *455*, 304.

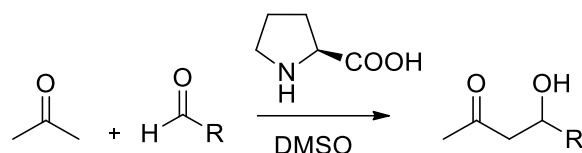


Schéma 67.

II.1. Différents modes d'activation existent en organocatalyse.

La catalyse par une base de Lewis est le processus par lequel un donneur de paires électroniques interagit avec un atome accepteur de l'un des substrats *via* une interaction de l'orbitale n-*, augmentant ainsi la vitesse d'une réaction donnée. Le caractère soit électrophile, soit nucléophile du réactif est alors accru. La base de Lewis ne doit être ni consommée, ni altérée au cours de la réaction.²⁰²

II.1.1 Aminocatalyse

Les amines primaires et secondaires sont les principales bases de Lewis utilisées en catalyse asymétrique. On parle d'aminocatalyse, classiquement, des acides de Lewis sont utilisés pour activer les dérivés carbonylés (AlCl₃, BF₃, ZnCl₂...), mais l'aminocatalyse s'est imposée comme étant une méthode de choix pour la fonctionnalisation des aldéhydes et des cétones. L'avantage d'utiliser un catalyseur azoté et qu'il permet, en plus d'accélérer la réaction, une application en synthèse asymétrique, du fait de sa configuration spatiale (Schéma 68).²⁰³

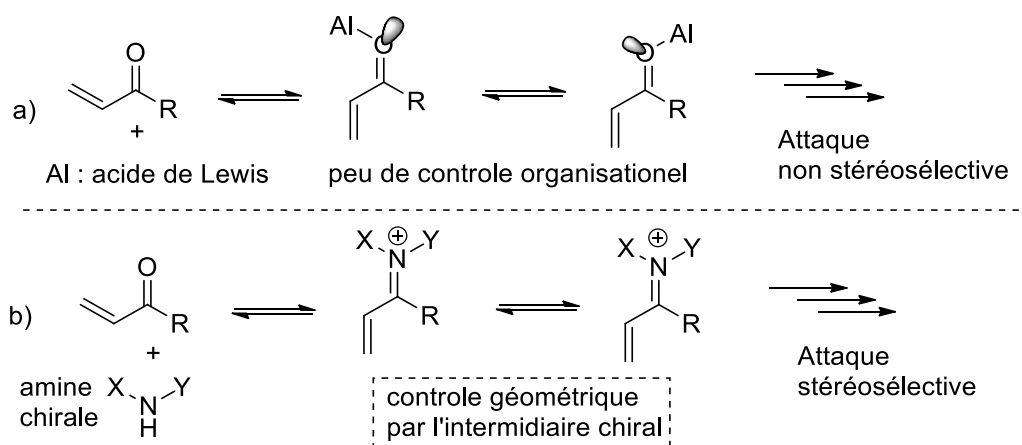


Schéma 68. Intermédiaires réactionnels lors de l'activation par :
(a) un acide de Lewis ;(b) une amine chirale.

²⁰² S. E. Denmark, G. L. Beutner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1560.

²⁰³ D. W. C. MacMillan, G. Lelais, *Aldr. Chim. Acta.* **2006**, *39*, 79.

Depuis le début du 21^{ème} siècle, les amines chirales ont permis la fonctionnalisation énantiosélective en des composés carbonylés, permettant ainsi la création de liaisons C-X (X = H, C, N, O, S...). Deux modes d'activations sont décrits, le premier passant par le biais d'une énamine à partir d'un dérivé carbonylé saturé (fonctionnalisation en α), le second par l'intermédiaire d'un iminium à partir d'un dérivé carbonylé α,β -insaturé (fonctionnalisation en β) (schéma 69).

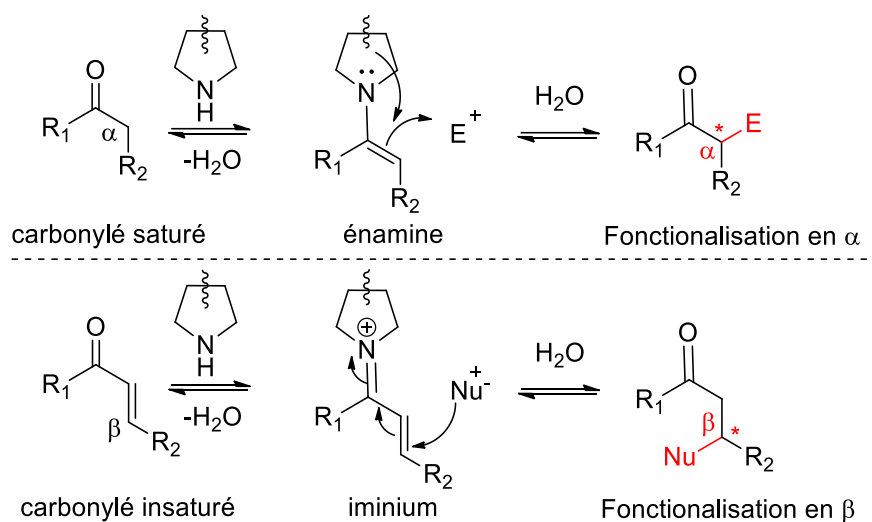


Schéma 69. Activation des carbonylés par une amine chirale

II.1.2 Activation de type énamine

La catalyse énamine²⁰⁴ implique que le composé carbonylé réagit initialement avec une amine primaire ou secondaire pour générer l'énamine correspondante *via* déshydratation. Alors que les composés carbonylés saturés sont des espèces électrophiles, l'énolate correspondant est, quant à lui, nucléophile. L'activation par les énamines permet d'augmenter cette nucléophilie afin de les faire réagir en α avec un grand nombre d'électrophiles.

L'orbite moléculaire la plus occupée (HOMO) de l'énamine est plus élevée en énergie que la HOMO du composé carbonylé, et peut donc interagir plus facilement avec LUMO ou SOMO (orbitale moléculaire occupée séparément) d'un électrophile (Figure 50).

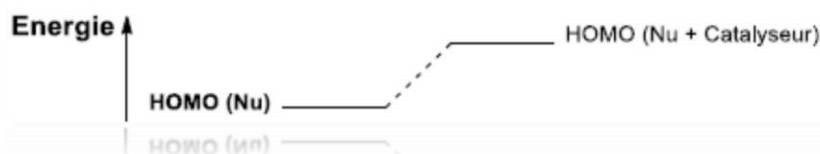


Figure 50

²⁰⁴a) S. Mukherjee, J. W. Yang, S. Hoffmann, B. List. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 5471. b) Y. Q. Zou, F. M. Hormann, T. Bach. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 278.

La formation d'une énamine est réversible par hydrolyse, ce qui permet son utilisation en tant que catalyseur. Le cycle catalytique de l'activation par un intermédiaire énamine est présenté ci-dessous (Figure 51).

La condensation d'un composé carbonylé (Fig.55. 2) avec un catalyseur azoté chiral (Fig.55. 1) mène à la formation d'un 1er iminium (Fig.55.3). Après abstraction d'un proton en milieu basique, l'énamine (fig.55.4) peut attaquer un électrophile. L'iminium (Fig.55. 5) qui en résulte est ensuite hydrolysé pour libérer le produit (Fig.55. 6) et régénérer le catalyseur. Ce dernier peut alors être engagé dans un nouveau cycle catalytique.

La réaction donne globalement l'addition énantiosélective en α d'un électrophile sur un dérivé carbonylé saturé. Un transfert de proton de l'amine ou d'un co-catalyseur acide AH au substrat accepteur est essentiel pour la stabilisation de charge et la formation de la liaison C-C dans l'état de transition. Bien que cette contribution soit importante pour ce type de catalyse, l'action de la base de Lewis est l'étape essentielle du processus catalytique.

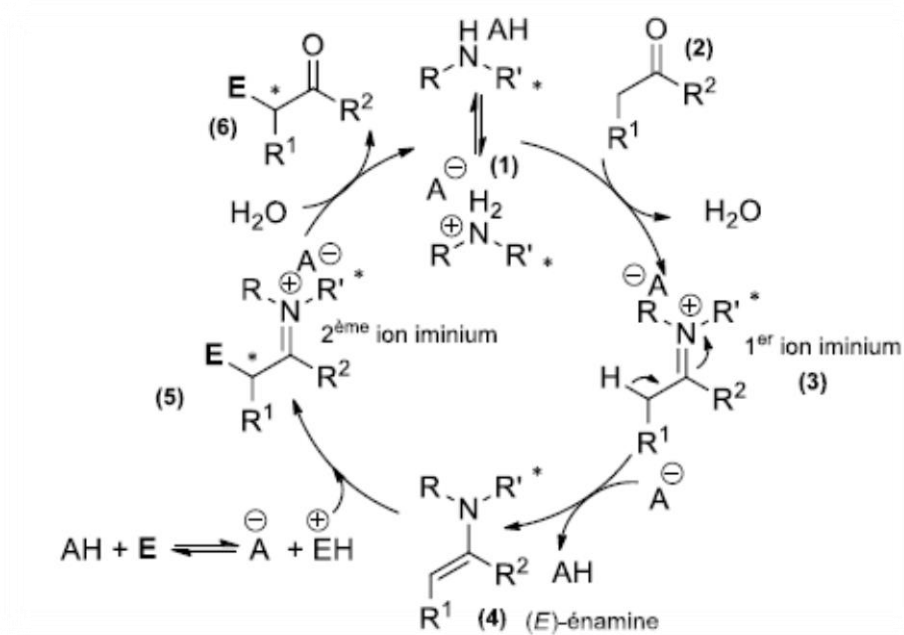


Figure 51

La stéréosélectivité de la catalyse par les énamines peut être induite par deux facteurs :

- *Effet électrostatique* : l'approche de l'électrophile est orientée grâce à un acide ou un donneur de liaison hydrogène intramoléculaire. L'électrophile est alors généralement un atome électronégatif possédant un doublet non liant accepteur de liaison hydrogène.
- *Effet stérique* : une face est encombrée par un groupement non acide. L'attaque de l'électrophile se fera sur la face opposée.

Les avantages de l'organocatalyse sont multiples puisqu'il s'agit de catalyseurs peu voire non toxiques, aisément disponibles, peu onéreux et stables en milieu aérobie. De plus, ils permettent l'accès aux deux énantiomères, contrairement à la catalyse enzymatique.

La création asymétrique de liaisons carbone-carbone, permettant l'accès à des chaînes carbonées fonctionnalisées et à des molécules biologiquement actives, est devenue fondamentale. La L-proline, a montré un potentiel tout à fait intéressant en tant qu'organocatalyseur chiral.²⁰⁵

Dans ce contexte, le travail de cette partie consiste à développer une nouvelle série d'organocatalyseurs potentiels incluant l'ester d'acide phosphonique, en synthétisant des nouveaux pyrazolophosphonates.

III. Optimisation de la condensation du 1-phenyl-3-aminopyrazole -5-one avec le benzaldéhyde et triéthylphosphite selon la réaction de Kabachnik-Fields.

Au cours de nos premiers essais, nous avons utilisé les conditions opératoires mises au point par Maddila et *al.*²⁰⁶ qui ont synthétisé des α -aminophosphonates à partir d'un aldéhyde, amine et triéthylphosphite en utilisant un organocatalyseur L-proline selon une réaction multicomposante à température ambiante (Schéma 70).

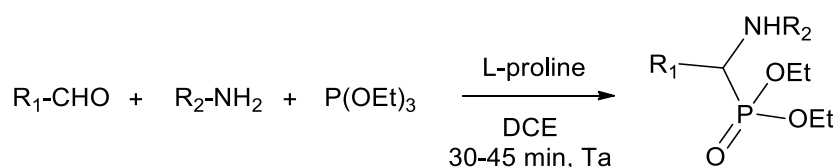


Schéma 70

Plusieurs travaux cités dans la littérature ont démontré que la réaction de Kabachnik-Field a été conduite en présence de catalyseurs, tels que le perchlorate de lithium,²⁰⁷ les triflates de lanthanide en présence du sulfate de magnésium,²⁰⁸ le trichlorure d'indium,²⁰⁹ le

²⁰⁵ a) S. Inoue. *Adv. Polym. Sci.* **1976**, *21*, 78. b) J. I. Oku, N. Ito, S. Inoue, *Makromol. Chem.* **1979**, *180*, 1089. c) M. S. Iyer, K. M. Gigstad, N. D. Namdev, M. Lipton, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4910. d) T. E. Horstmann, D. J. Guerin, S. J. Miller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3635. e) S. M. Mennen, J. T. Blank, M. B. Tran-Dube, J. E. Imbriglio, S. J. Miller, *Chem. Commun.* **2005**, *2*, 195.

²⁰⁶ S. Maddila, S. K. Avula, A. K. Avula, P. Lavanya. *Arab. J. Chem.* **2016**, *9*, 787.

²⁰⁷ A. Heydari, A. Karimian. *J. Ipaktschi.Tetrahedron.Lett.* **1998**, *39*, 6729.

²⁰⁸ C. Qian, T. Huang. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4125.

trichlorure d'aluminium,²¹⁰ le pentachlorure de tantale associé à la silice SiO₂ et le diiodure de samarium,^{211,212} la réaction conduit toujours à un seul produit le α -aminophosphonate.

Lorsqu'un mélange équimolaire de 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one et de benzaldéhyde est soumis à l'action de 1,5 équivalent de triéthylphosphite en présence d'un catalyseur organique L-proline dans le CH₂Cl₂ à température ambiante pendant 24 heures, cette séquence conduit bien aux deux nouveaux composés organophosphorés **34** et **35** inattendus au lieu du produit attendu **A** et avec des rendements modérés (Schéma 71).

Dans notre cas nous n'obtenons pas le produit souhaité, comme il est décrit dans la littérature suivant la réaction de Kabachnik-Fields.

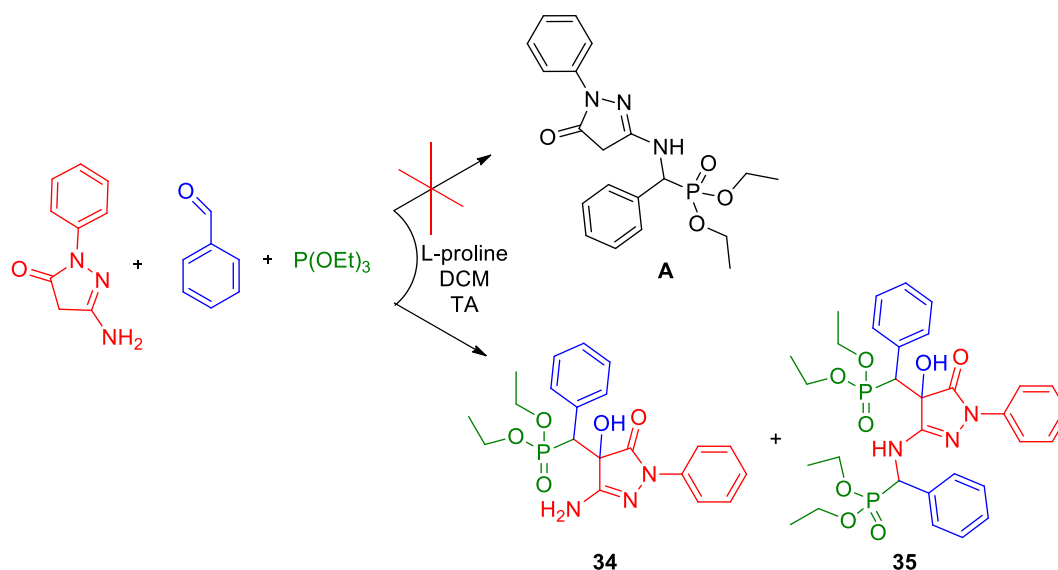


Schéma 71

En effet, contrairement aux résultats décrits dans la littérature, la condensation de 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one avec le benzaldéhyde et triéthylphosphite selon la condensation « one pot » de Kabachnik-Fields, a engendré la formation de deux nouveaux dérivés pyrazolophosphonates : le α -hydroxyphosphonate **34**, et le α -amino- α -hydroxy-diphosphonate **35**.

²⁰⁹ R. A. Cherkasov, V. I. Galkin. *Russ. Chem. Rev.* **1998**, 67, 857.

²¹⁰ A. Manujla, B. Rao, P. Neelakantan, *Synth. Commun.* **2003**, 33, 2963.

²¹¹ S. Charasekhar, S. Prakash, V. Jagadeshwar, C. Narsihmulu. *Tetrahedron.Lett.* **2001**, 42, 5561.

²¹² F. Xu, Y. Luo, M. Deng, Q. Shen. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4728.

Toutefois, en raison des rendements moyens constatés, et aussi du temps de la réaction trop long, nous avons procédé à l'optimisation des conditions de la synthèse des ces dérivés pyrazolophosphonates, en étudiant l'effet de la température (Tableau 10), l'effet du catalyseur (Tableau 11), ainsi que l'effet du solvant sur le déroulement de cette synthèse (Tableau 12).

Tableau 10 : Effet de la température sur la synthèse des pyrazolophosphonates.

Entrée	catalyseur	méthode	temps	Rdt (%)	
				34	35
1	L-proline	T.A.	21h	35	40
2		reflux	4h30min	40	55
3		micro-onde	5min	10	36
4		tube scellé	72h	-	-

Tableau 11 : Effet du catalyseur sur la synthèse des pyrazolophosphonates.

Entrée	catalyseur	temps	Rdt (%)	
			34	35
1	-	24h	25	40
2	L-proline	4h30min	40	55
3	PDO/PN	56h6min	30	50
4	MgAlCO ₃	47h11min	30	30

Tableau 12 : Effet du solvant sur la synthèse des pyrazolophosphonates

Entrée	catalyseur	solvant	temps	Rdt (%)	
				34	35
1	L-proline	EtOH	1h35min	40	60
2		DCM	4h30min	40	55
3		Toluène	5h	10	36
4		Chlorobenzène	4h	25	30

En utilisant le chauffage classique (reflux) dans les mêmes conditions que l'essai 1 (entrée 1, Tableau 10), nous avons parvenu aux mêmes produits avec un très bon rendement. Suite aux résultats obtenus, nous constatons que les rendements des réactions étudiées dépendent de la nature du solvant et du catalyseur utilisé. Nous constatons que l'éthanol est le meilleur solvant pour cette condensation.

Au vu des différents essais réalisés, les conditions optimales sont celles décrites dans le tableau 12 entrée 1, à savoir : l'utilisation d'un équivalent du 3-amino-1-phenyl-2-

pyrazolin-5-one, 1,2 équivalent de benzaldéhyde et 1,5 équivalent de triéthylphosphite dans EtOH à reflux pendant 1h35min.

IV. Etude spectroscopique:

VI.1. Caractérisation de α -hydroxy-pyrazolo-phosphonates

a. Spectroscopie de RMN du proton:

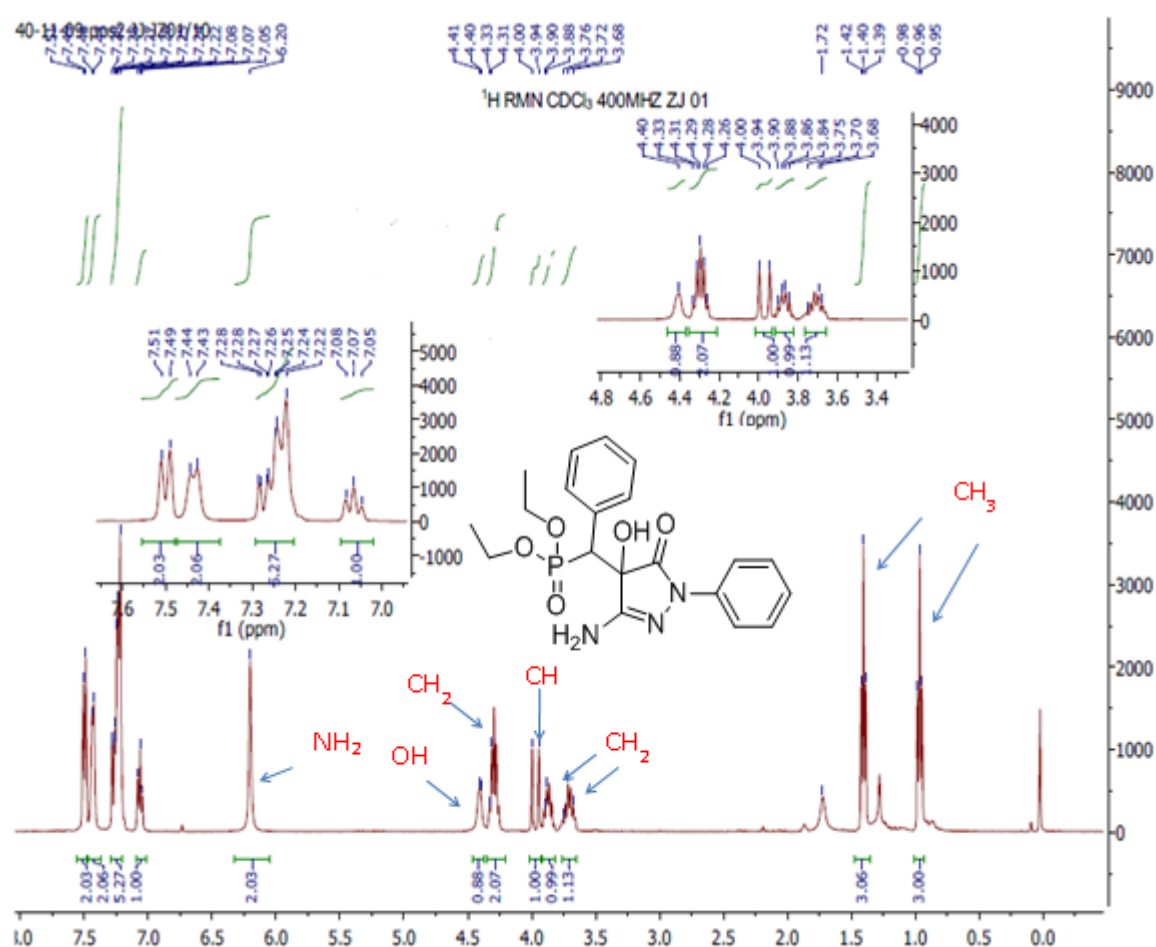


Figure 52. Spectre RMN 1H pris dans CDCl₃ du composé **34**

La RMN du proton confirme bien la structure du composé **34** synthétisé. Ainsi, deux signaux sont attribuables aux six protons du méthyle de l'ester de phosphonate 2(-O-CH₂-CH₃), résonnent sous la forme d'un triplet vers 1,40ppm et 0,96ppm, respectivement. L'un des deux protons du méthylène de l'ester de phosphonate (-O-CH₂-CH₃), résonne sous la forme de multiplet vers 3,73 ppm et l'autre vers 3,87 ppm.

Les deux autres protons du motif $-O-CH_2-CH_3$ de l'ester de phosphonate, résonnent sous la forme d'un seul multiplet vers 4,29 ppm.

Le proton du CH, du cycle pyrazolique du composé **34**, résonne sous la forme de deux singulet vers 3,94 ppm et 4,00 ppm, respectivement. Le dédoublement de signaux est dû à la présence de carbone asymétrique et aussi du au couplage avec le phosphore P. Le proton du groupe hydroxyle (-OH) du composé **34** résonne sous la forme d'un pic large vers 4,40 ppm. Et les protons de l'amine NH_2 sortent vers 6,20 ppm.

b. Spectroscopie de RMN du carbone 13.

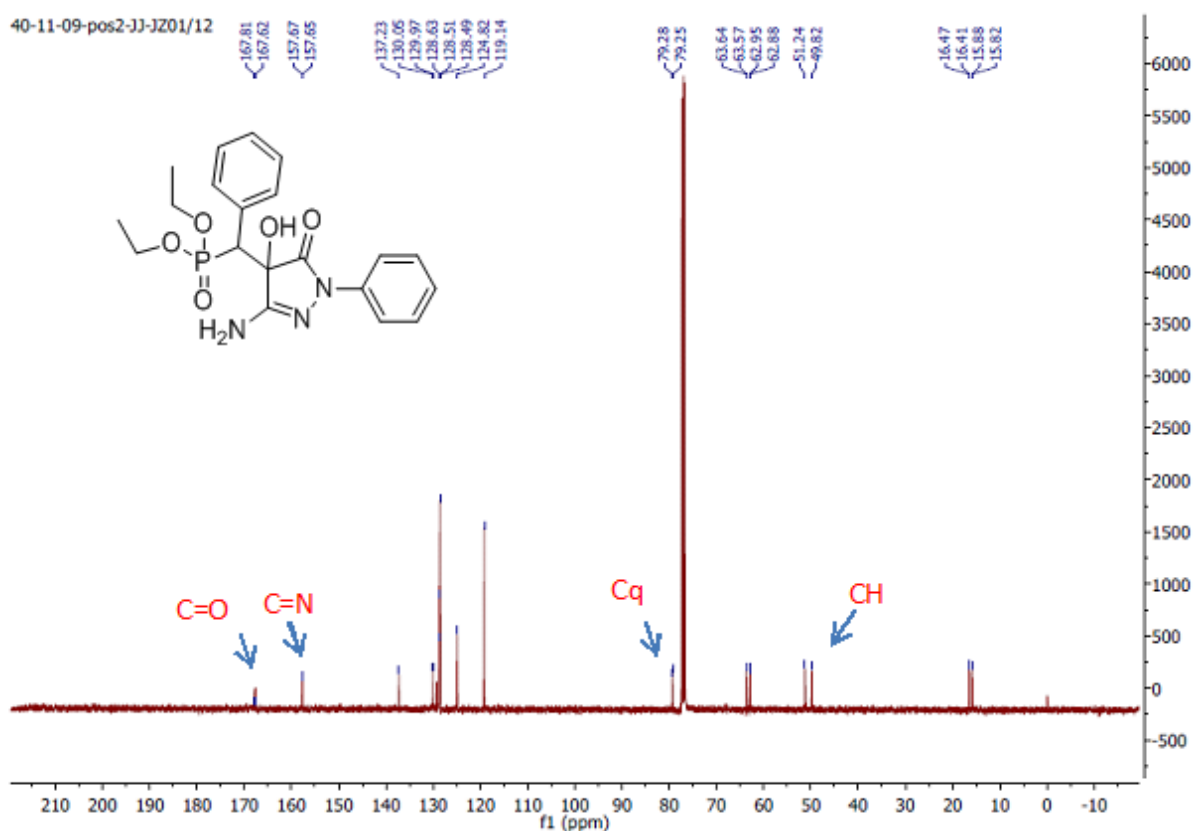


Figure 53. Spectre RMN ^{13}C pris dans $CDCl_3$ du composé **34**

Le spectre RMN carbone 13 (^{13}C) du composé **34**, montre l'apparition d'un seul signal relatif au carbone quaternaire de motifs $HO-C-P$ vers 79,28 ppm, avec une constante de couplage $^1J_{CP}$ de l'ordre de 2,25 Hz. Aussi, l'apparition de deux signaux vers 157,6 et 167,7 ppm attribuables aux carbones de la fonction imine $-C=N$ et carbonyle $-C=O$ du cycle pyrazolique. Au niveau de carbone asymétrique, on observe un dédoublement de signal vers 49,82 ppm et 51,24 ppm.

VI.2. Caractérisation de α -hydroxy, α -amino pyrazolo-phosphonates **35**

a. Spectroscopie de RMN du proton

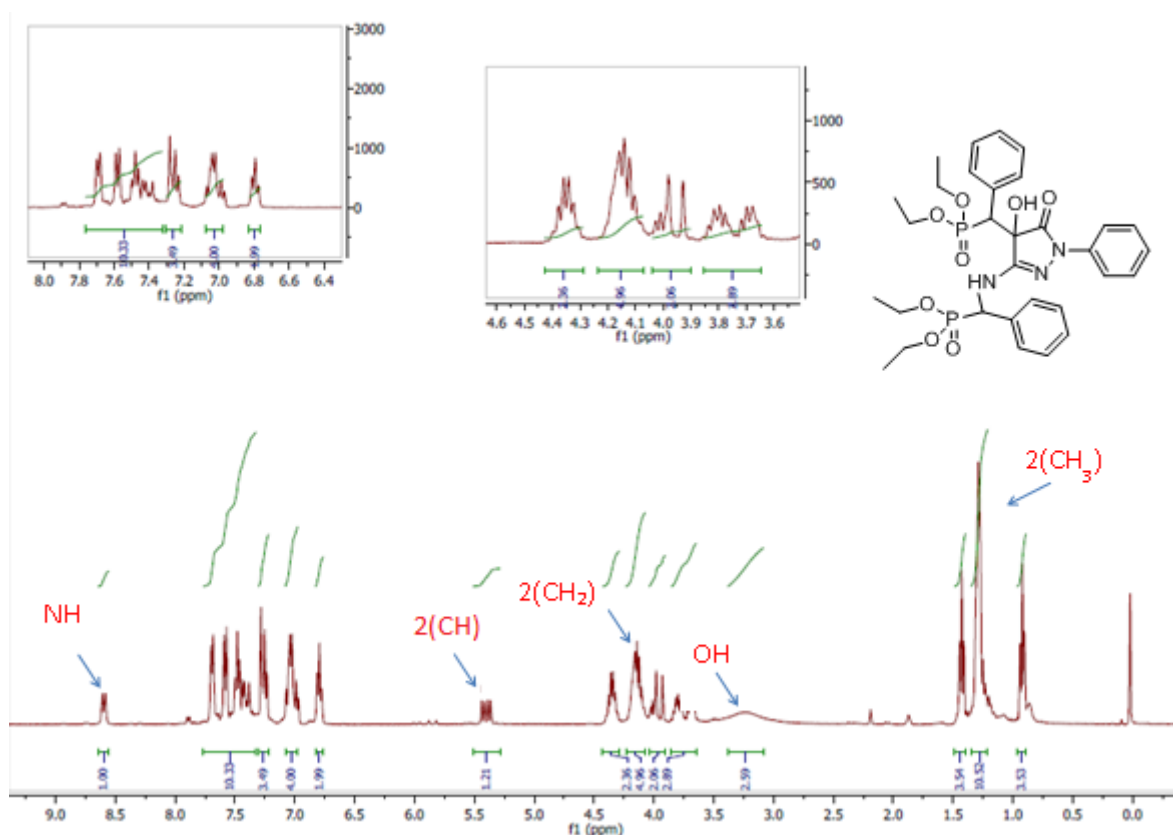


Figure 54. Spectre RMN ^1H pris dans CDCl_3 du composé **35**

La RMN du proton confirme bien les structures des pyrazolophosphonates synthétisés du composé **35**. Ainsi, deux signaux attribuables aux six protons du groupement de l'ester phosphonate 2(-O-CH₂-CH₃) résonnent sous la forme d'un multiplet vers 1,43 ppm et 0,92 ppm, respectivement. En plus d'un signal attribuable aux six protons, du deuxième motif d'ester phosphonate 2(-O-CH₂-CH₃), qui résonnent sous la forme d'un multiplet vers 1,30 ppm.

Les huit protons du motif de l'ester phosphonate, 4(-O-CH₂-CH₃), résonnant sous la forme de quatre multiplets, vers 3,67 ppm et 3,78 ppm, puis vers 4,13 ppm et 4,35 ppm. Le proton du motif (-CH) du cycle pyrazolique des composés **35**, résonne sous la forme de deux singlets vers 3,93 et 3,98 ppm, respectivement. Confirmant ainsi, la présence de deux stéréoisomères.

Le groupement (-CH) du composé **35** résonne sous la forme d'un pic doublet de doublet vers 5,40 ppm. Finalement Le protons du motif NH résonne sous la forme d'un doublet vers 8,60 ppm.

b. Spectroscopie de RMN du ^{13}C

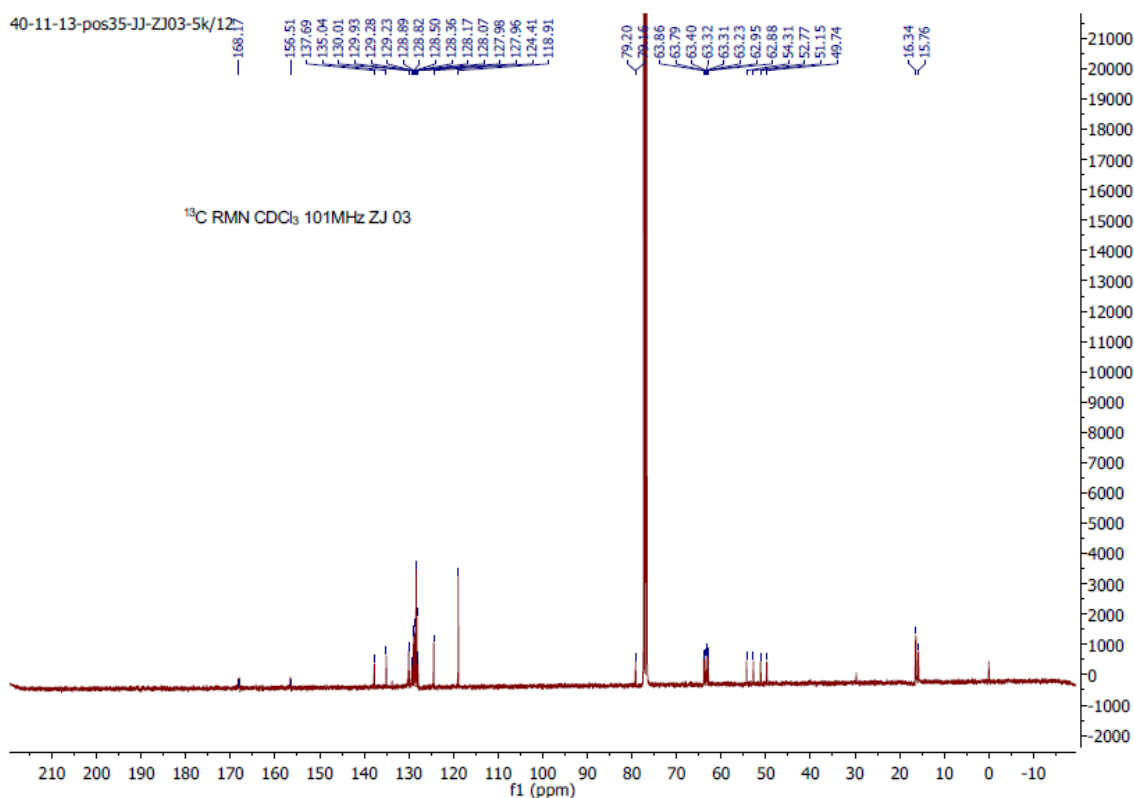


Figure 55. Spectre RMN ^{13}C pris dans CDCl_3 du composé **35**

Le spectre de RMN ^{13}C , du composé **35**, montre la présence d'un seul signal relatif au carbone quaternaire de motifs (OH-C-P) vers 79,18 ppm. Et aussi, l'apparition de deux signaux vers 156,51 ppm et 168,17 ppm, qui sont attribuables aux carbones de la fonction imine -C=N et de la fonction carbonyle -C=O du cycle pyrazolique.

Au niveau de carbone asymétrique on observe quatre pics correspondant au dédoublement de signal vers 51,24 ppm et 49,82 ppm. Cette structure est confirmée par les analyses de RMN 2D (Figures : 57, 58 et 59).

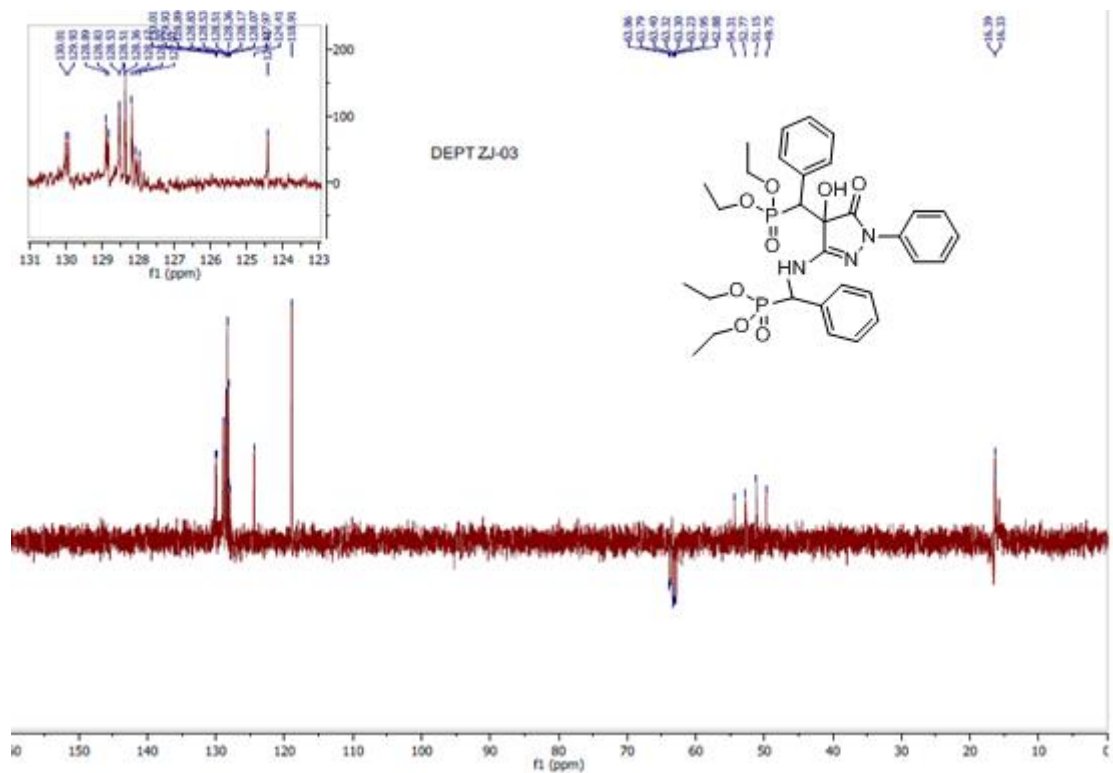


Figure 56. Spectre DEPT de composé 35 dans CDCl_3

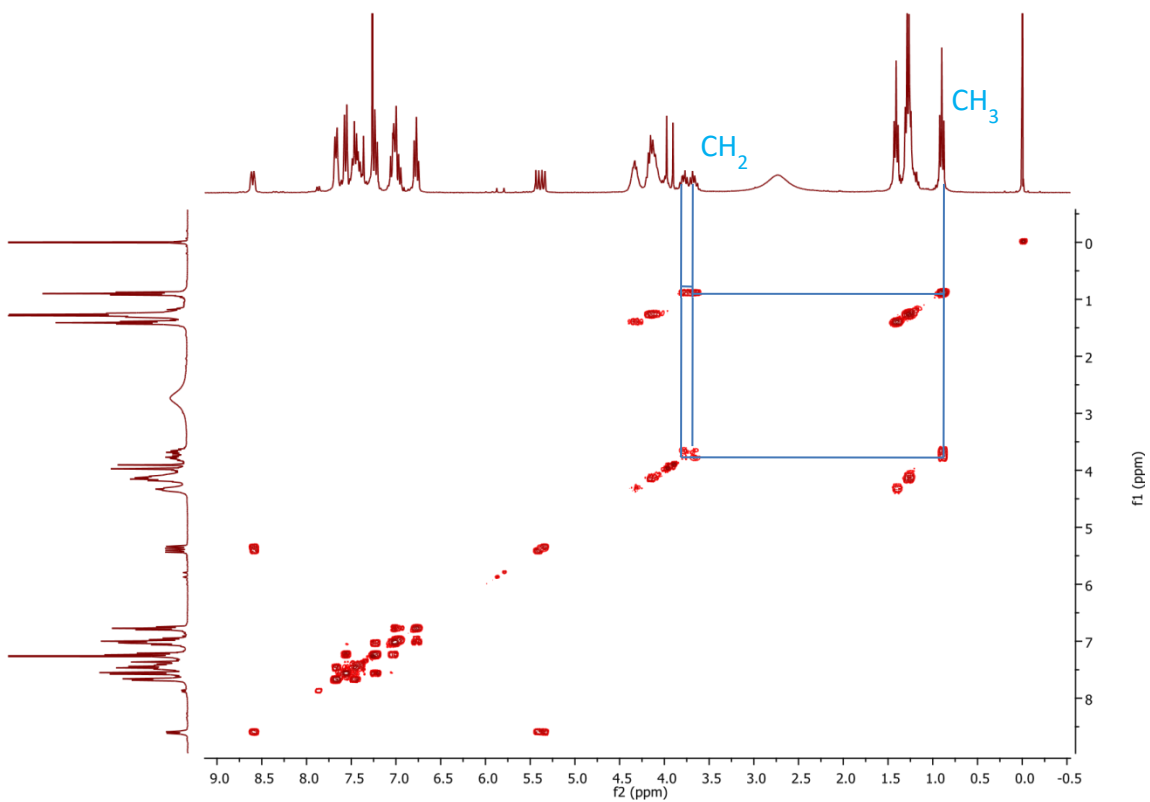


Figure 57. Spectre COSY de composé 35 dans CDCl_3

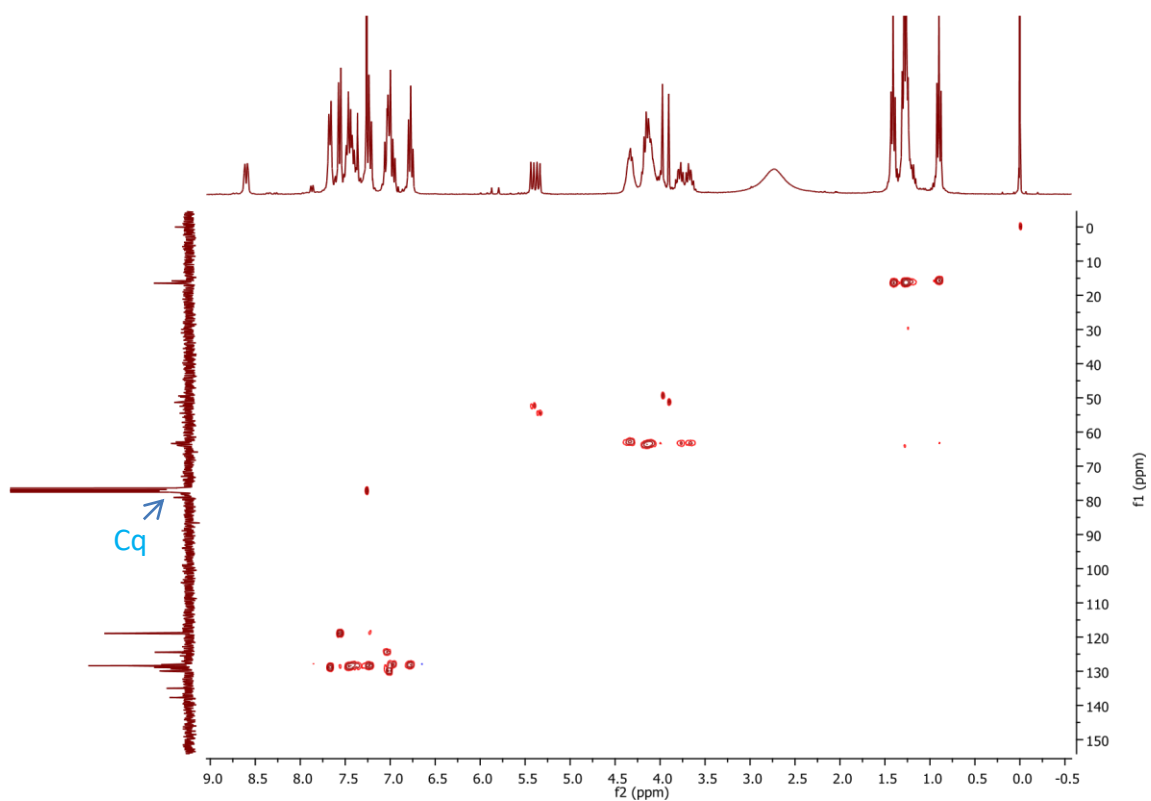


Figure 58. Spectre HSQC de composé **35** dans CDCl_3

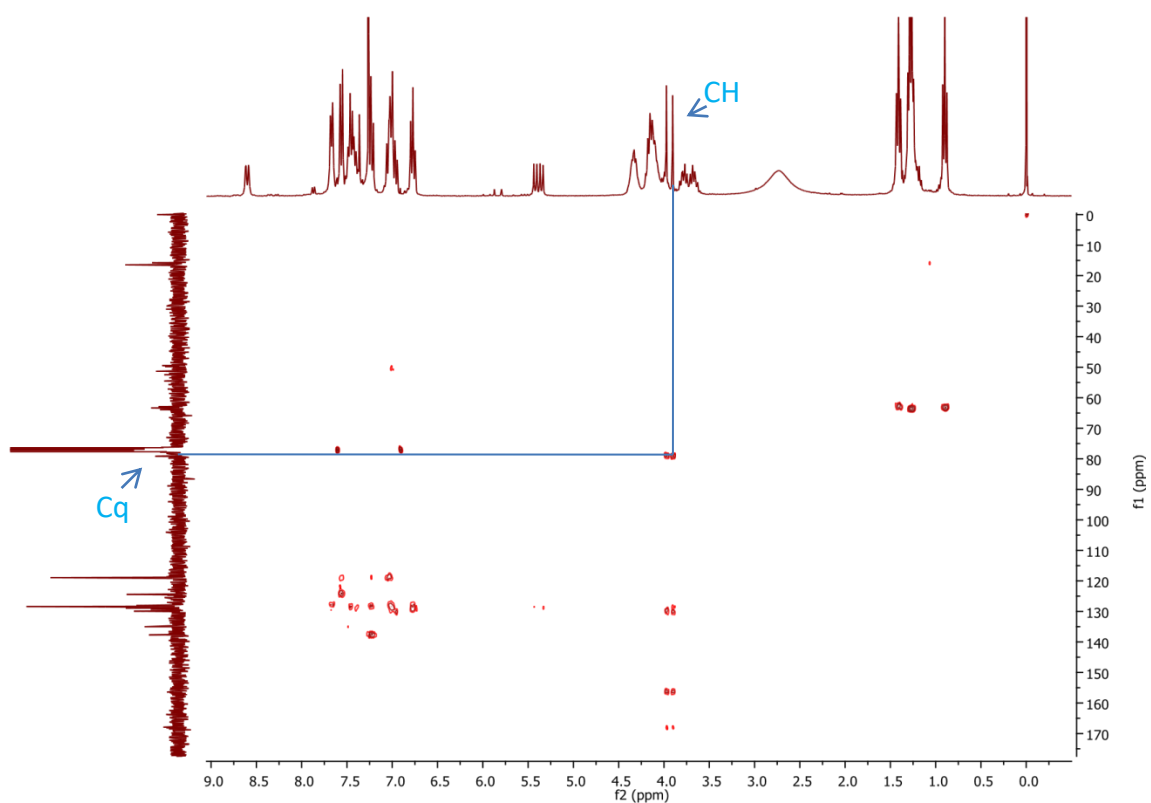


Figure 59. Spectre HMBS de composé **35** dans CDCl_3

c. Spectrométrie de masse:

Les données de spectrométrie de masse (HRMS) des pyrazolophosphonates montrent la présence des pics moléculaires M^+ qui sont conformes aux formules brutes. Le pic le plus intense (pic de base) correspond aux formules brutes avec $m/z = 218$ et 244 .

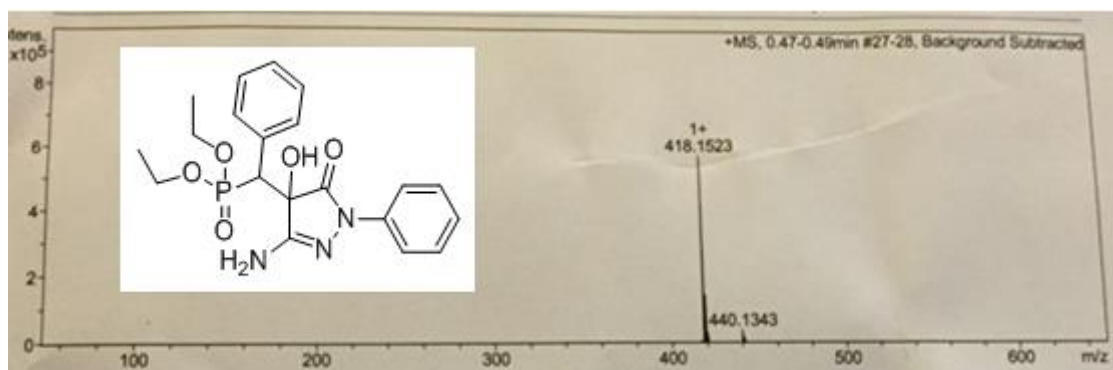


Figure 60. Spectre de masse de composé **34**

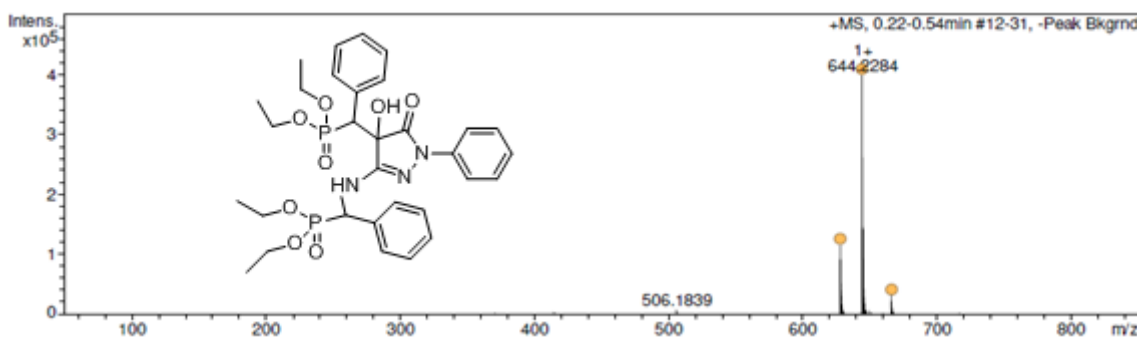


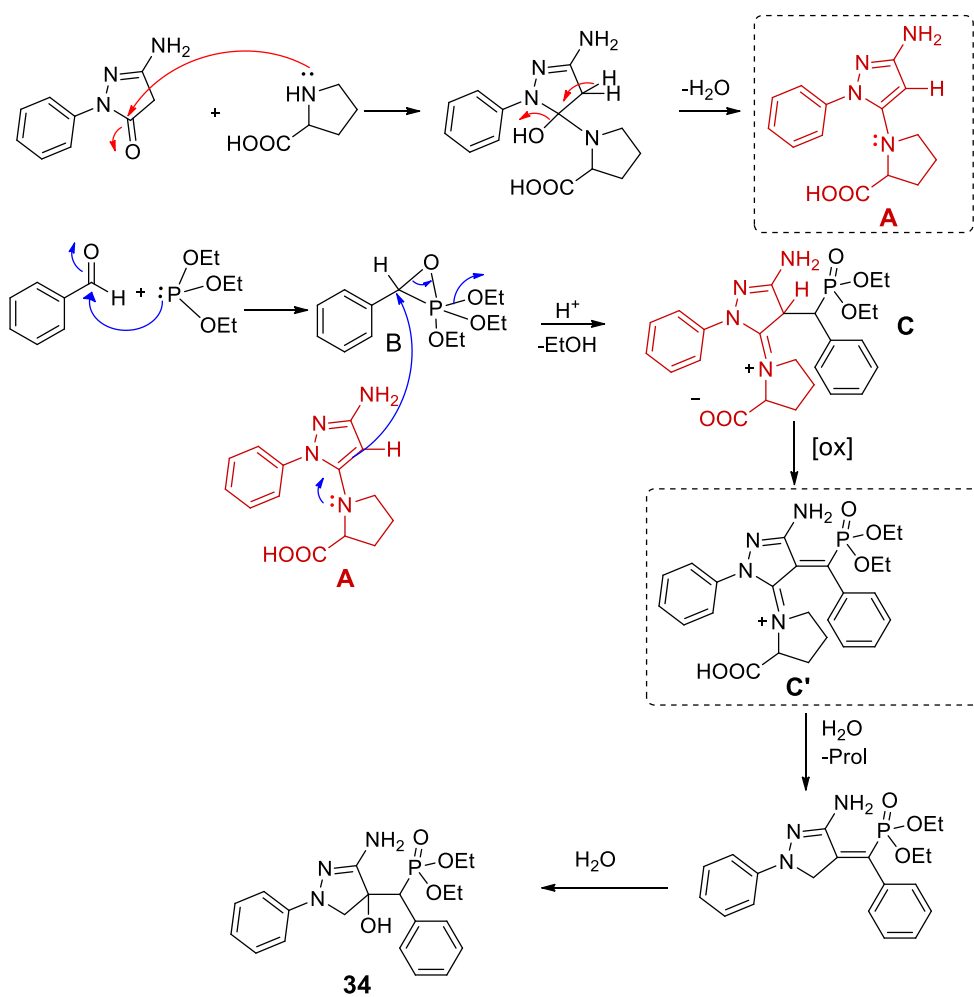
Figure 61. Spectre de masse de composé **35**

V. Mécanisme proposé

Dans *l'étape 1*, deux réactions sont produites simultanément : la L-Proline chirale, catalyse la formation de l'énamine **A**, Par la suite, l'attaque de triéthylphosphite sur l'aldéhyde engendre la formation de pyroxyphosphonate **B**, qui subit l'addition nucléophile intermoléculaire du **A** pour fournir **C**, qui est transformée par oxydation en l'iminium **C'**, conduisant après hydrolyse et élimination de la L-proline au dérivé aminopyrazolone substitué en position 4 par le groupe hydroxyphosphonate de diéthyle **34** (Schéma 72).

L'étape 2 consiste en l'attaque exclusive par le doublet, du motif NH_2 du composé **34**, sur le carbonyle de benzaldéhyde, pour former l'énamine **D**. Cette dernière subit l'addition nucléophile de triéthylphosphite conduisant, après élimination de l'éthanol, au dérivé **35**.

Etape 1.



Etape 2.

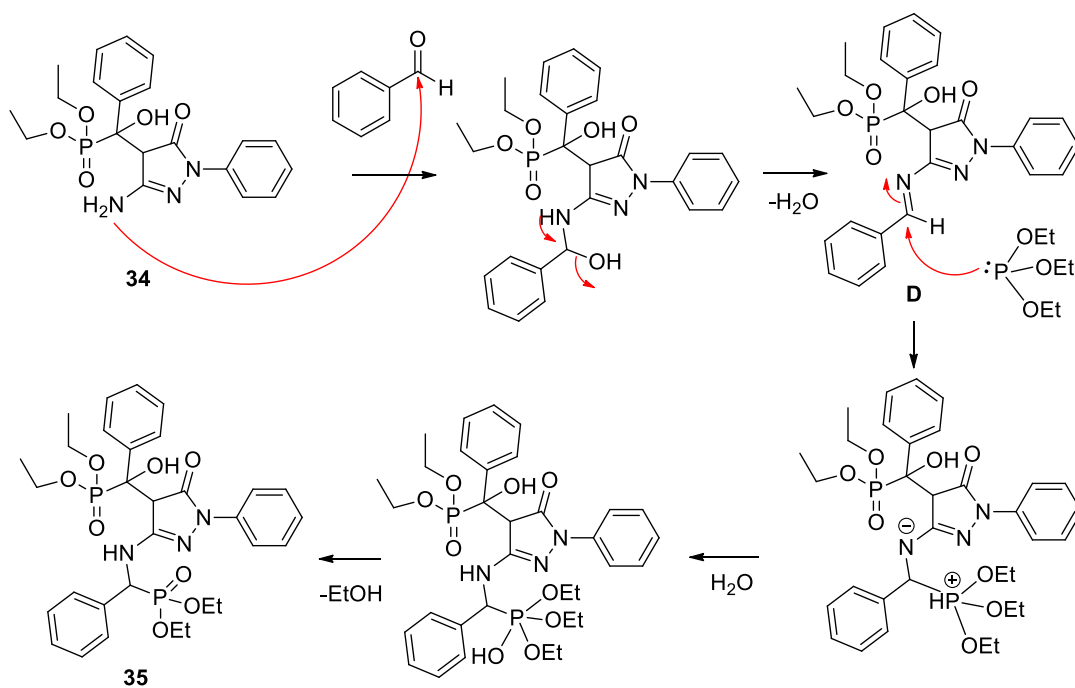


Schéma 72

VI. Évaluation de l'activité antibactérienne des composés pyrazolophosphonates

VI.1. Mode opératoire

Une culture d'une nuit de *S. aureus* dans du bouillon de soja tryptique (TSB) a été inoculée à la surface de la gélose Tryptic Soy Agar (TSA) avec un écouvillon stérile. Des disques imprégnés de solutions de DMSO 100 mM des composés à tester ont été placés sur la surface du milieu inoculé. Un disque vierge imprégné de DMSO a été utilisé comme témoin négatif.

Des disques commerciaux contenant 10 µg de chloramphénicol ont été inclus comme contrôles positifs. Les composés et les témoins ont été testés dans des boîtes de pétrie indépendantes en triple exemplaire. Les cultures ont été incubées pendant 24h à 37°C.

VI.2. Résultats

Pour la souche bactérienne *S. aureus* nous avons testé sa sensibilité aux composés **34 (P₂)** et **35 (P₃)**. (Figure 62)

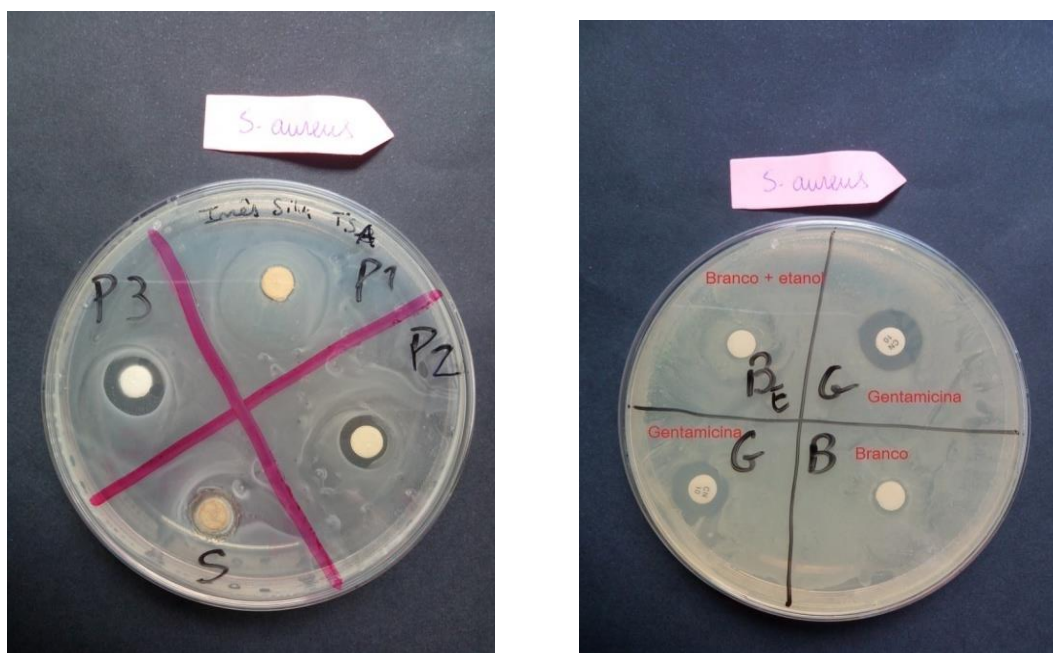


Figure 62. Antibiogramme de pyrazolophosphonates **34** et **35** sur la croissance de *S. aureus* selon la méthode Kirby-Bauer avec disques

Lors de l'évaluation de l'effet des deux pyrazolophosphonates **34** et **35** par la technique de diffusion sur disque, une inhibition de la croissance bactérienne est observée (Figure 62).

En effet, l'apparition d'un halo stérile est présente aux alentours des disques contenant la solution de pyrazolophosphonates, qui est similaire au témoin positif utilisé. Nous avons observé que la zone d'inhibition du composé **35** est plus large que celle du composé **34**.

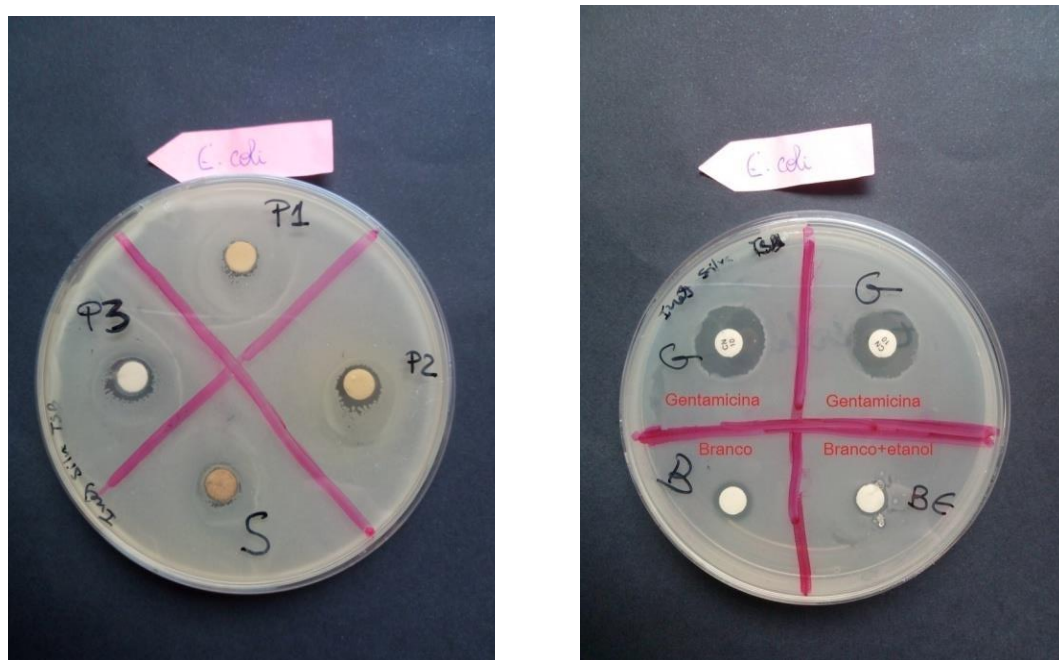


Figure 63 : Antibiogramme de pyrazolophosphonates **34** et **35** sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* selon la méthode Kirby-Bauer avec disques.

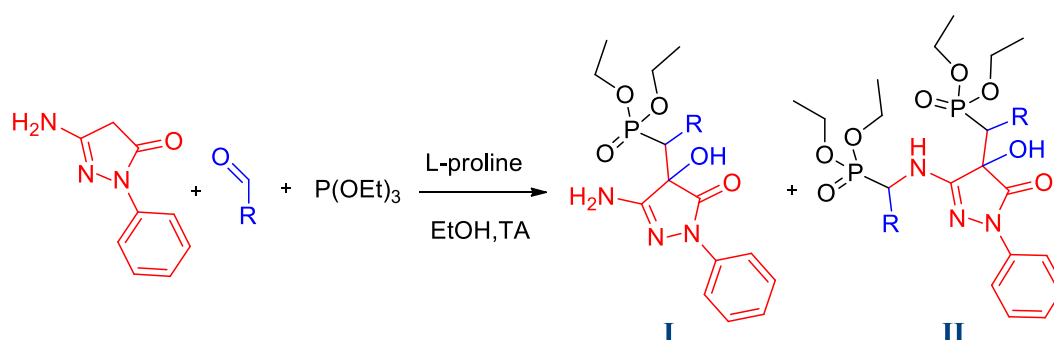
Pour la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons également testé sa sensibilité aux composés **34** et **35**. Nous avons observé une légère inhibition de la croissance bactérienne (Figure 63).

En effet, il y a l'apparition d'un petit halo stérile au pourtour des disques contenant la solution de pyrazolophosphonates par comparaison à celui du témoin positif utilisé.

Nous avons constaté aussi que la zone inhibition du composé **35** est plus large que celle du composé **34**.

VII. Elaboration de nouveaux pyrazolophosphonates selon la réaction de Kabachnik-Field

Pour découvrir relations structure-activité, Ainsi que l'étendue de son champ d'application vis-à-vis de différents partenaires organophosphorés. Nous avons introduit différents substituant sur le cycle aromatique de benzaldéhyde, et pour enrichir la chimiothèques, nous avons généralisé cette réaction en différentes aldéhydes aromatiques et aliphatiques.

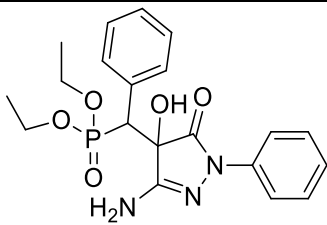
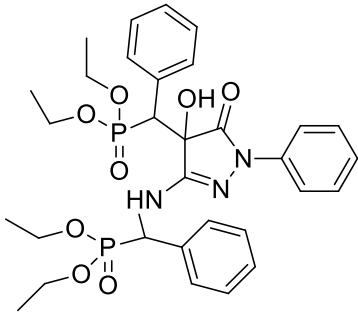
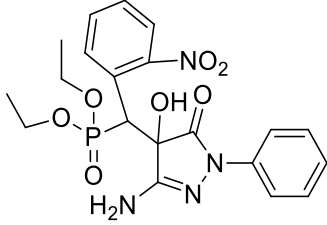
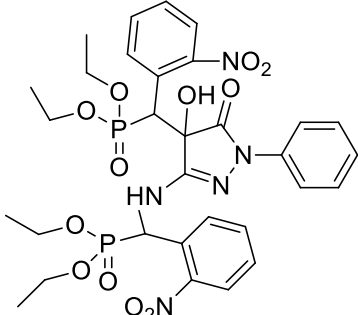
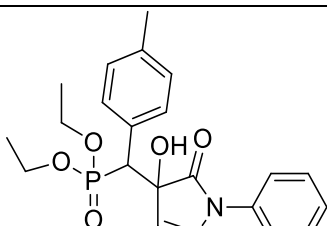


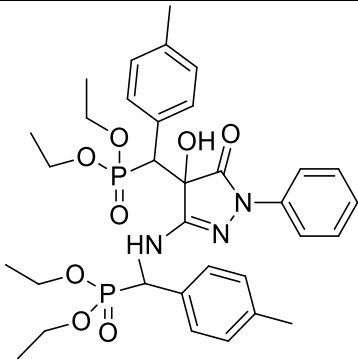
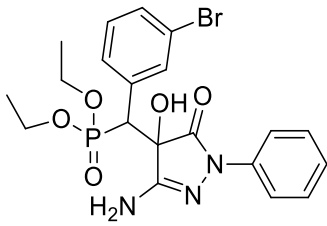
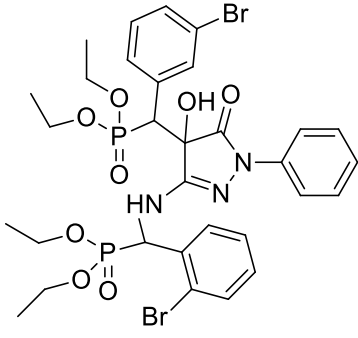
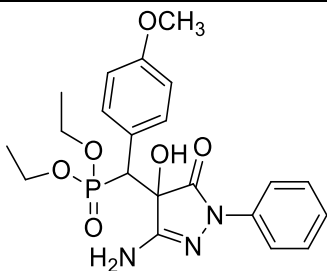
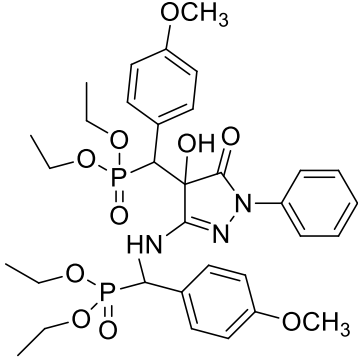
Composés			Composés		
Entrée	R	I - II	Entrée	R	I - II
1	C ₆ H ₅	34 - 35	9	4-N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	50 - 51
2	2-NO ₂ -C ₆ H ₅	36 - 37	10	4-Cl-C ₆ H ₅	52 - 53
3	4-CH ₃ -C ₆ H ₅	38 - 39	11	4-F-C ₆ H ₅	54 - 55
4	3-Br-C ₆ H ₅	40 - 41	12	3,5-OCH ₃ -C ₆ H ₅	56 - 57
5	4-OCH ₃ -C ₆ H ₅	42 - 43	13	3-OH-C ₆ H ₅	58 - 59
6	Furane	44 - 45	14	H	60 - 61
7	C ₃ H ₇	46 - 47	15	CH ₃	62 - 63
8	3-NO ₂ -C ₆ H ₅	48 - 49			

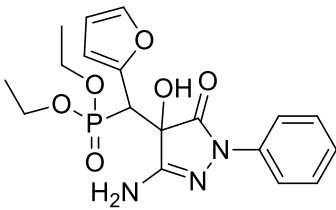
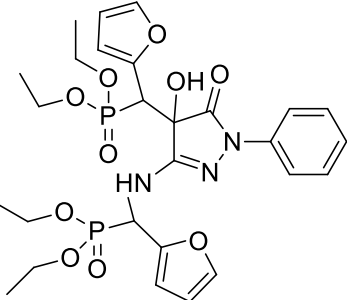
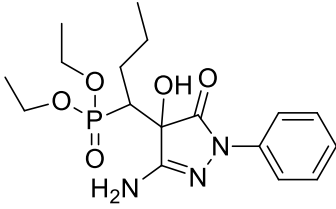
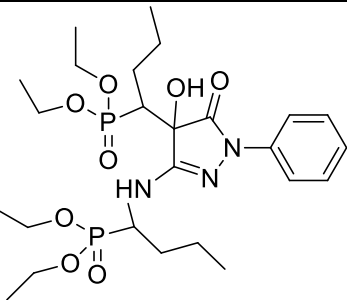
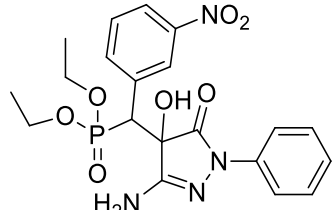
Schéma 73

Cette méthode de synthèse est réalisée en une seule étape. Elle est applicable aux aldéhydes aliphatiques et aromatiques, en utilisant les conditions opératoires optimisées précédemment, pour la synthèse des composés **34** et **35**.

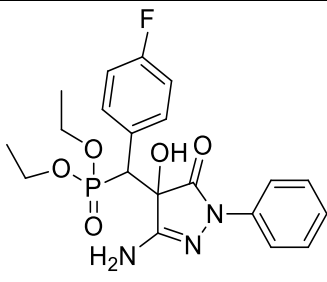
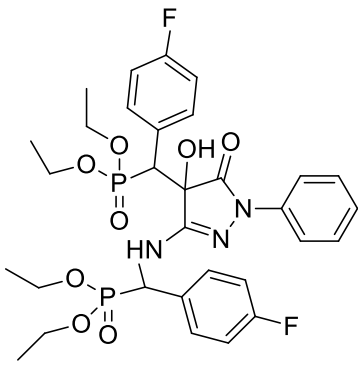
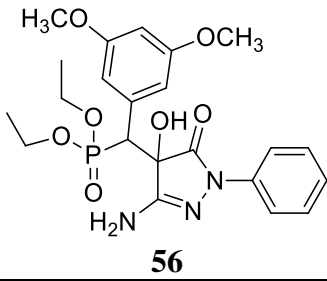
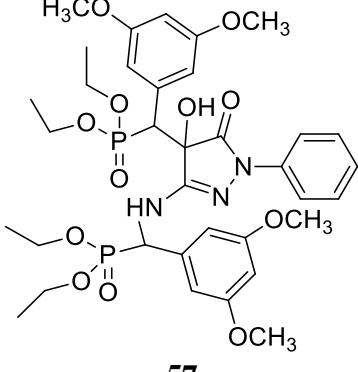
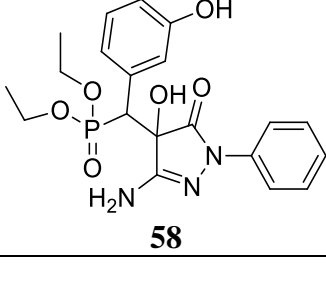
Tableau 13 : Synthèses des nouveaux pyrazolophosphonates.

Entree	R	Produits	Rdt
1	C ₆ H ₅	 <p>34</p>	40%
		 <p>35</p>	60%
2	2-NO ₂ -C ₆ H ₅	 <p>36</p>	50%
		 <p>37</p>	30%
3	4-CH ₃ -C ₆ H ₅	 <p>38</p>	30%

		 <p style="text-align: center;">39</p>	55%
4	3-Br-C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">40</p>	20%
		 <p style="text-align: center;">41</p>	56%
5	4-OCH ₃ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">42</p>	33%
		 <p style="text-align: center;">43</p>	60%

6	Furan	 <p style="text-align: center;">44</p>	45%
		 <p style="text-align: center;">45</p>	50%
7	C ₃ H ₇	 <p style="text-align: center;">46</p>	76%
		 <p style="text-align: center;">47</p>	18%
8	3-NO ₂ -C ₆ H ₅	 <p style="text-align: center;">48</p>	20%

		<p style="text-align: center;">49</p>	74%
9	4-N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	<p style="text-align: center;">50</p>	60%
		<p style="text-align: center;">51</p>	35%
10	4-Cl-C ₆ H ₅	<p style="text-align: center;">52</p>	60%
		<p style="text-align: center;">53</p>	30%

11	4-F-C ₆ H ₅	 <p>54</p>	40%
		 <p>55</p>	45%
12	3,5-OCH ₃ -C ₆ H ₅	 <p>56</p>	50%
		 <p>57</p>	45%
13	3-OH-C ₆ H ₅	 <p>58</p>	50%

		<p style="text-align: center;">59</p>	30%
14	H	<p style="text-align: center;">60</p>	40%
		<p style="text-align: center;">61</p>	45%
15	CH ₃	<p style="text-align: center;">62</p>	40%
		<p style="text-align: center;">63</p>	30%

II.6. Conclusion

La synthèse des nouveaux pyrazolo-phosphonates a été effectuée en une seule étape « one pot », selon la réaction tandem de Kabachnik-Fields / Pudovik.

Dans la première étape, nous avons pu préparer l'hétérocycle possédant le groupe fonctionnel l'ester phosphonate, formant ainsi la pyrazolo- α -hydroxyphosphonates, à partir de la 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one et des différents aldéhydes et triéthylphosphite, en d'un organocatalyseur, la L-proline, dans l'éthanol à reflux ; le temps de la réaction varie en fonction de l'aldéhyde utilisé.

La deuxième étape, avait trait à la synthèse de α -hydroxy- α -aminophosphonates à partir de α -hydroxyphosphonates selon la réaction de Pudovik. Les dérivés à structure pyrazolo-phosphonates, sont obtenus avec des rendements acceptables.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre thématique de recherche est axée sur la synthèse hautement sélective à partir de synthons 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one. Au-delà de l'intérêt apporté par le cycle pyrazolique en synthèse organique, il forme un pharmacophore considérable dans la recherche en pharmacochimie. Ainsi, leurs dérivés couvrent un large spectre d'utilisation allant des herbicides, insecticides et fongicides à des composés plus intéressants pour l'homme : inhibiteur HIV, anti-tumoraux, antibactériens.

Dans la première partie de ce travail, nous avons entrepris, nous avons mis au point une nouvelle méthodologie pour la préparation des nouveaux dérivés spiropyrazolones.

La stratégie de synthèse de ces composés, consistant à utiliser la réaction tandem de Knoevenagel-Michael « one pot » entre 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one et les aldéhydes catalysés par triéthylamine, à reflux dans l'éthanol cette méthode a été appliquée pour la préparation d'une série de produits avec de bons rendements (Figure A).

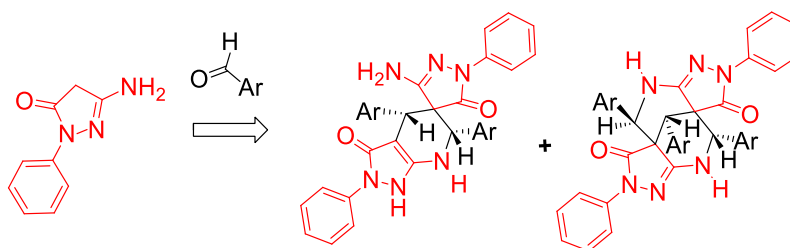


Figure A. Schéma de synthèse des spirohétérocycles

Parmi ces produits ont été testés par la suite contre des bactéries gram-positifs et gram-négatifs. À l'aide de la méthode de diffusion du disque de Kirby et Bauer. Les résultats obtenus montrent malheureusement que ces composés spiropyrazoliques sont inactifs. Ce travail sera poursuivi au laboratoire, afin d'étudier davantage la réactivité de ces dérivés élaborés, et procéder à d'autres tests d'évaluation de leurs activités. Ces produits spiropyrazoliques élaborés, ont été testés sur *Quorum Sensing*. Les résultats obtenus montrent malheureusement que les composés spiropyrazoliques **8**, **15**, **9** et **13**, ne possèdent aucune activité inhibitrice de *Quorum Sensing*.

Les nouveaux spiropyrazolones synthétisés ont été jugés en conformité avec "la règle de cinq de Lipinski". Les calculs de molinspiration rapportés aux composés **5 au 7**, **et 9, 11 au 23**, **et 24**, montrent que les spiropyrazolones pourraient être de bons candidats pour interagir avec les différentes cibles enzymatiques (ligand GPCR, modulateur des canaux

ioniques, un inhibiteur de kinase, un ligand récepteur nucléaire, inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme).

Il peut être conclu que les spiropyrazolones sont des molécules biologiquement importantes, et susceptibles de posséder des propriétés biologiques ou / et pharmaceutiques souhaitables, pour être des « candidats médicaments », à l'exception des valeurs de log P. Par conséquent, certaines modifications structurales doivent être faites dans le squelette, afin d'améliorer leur caractère lipophile, et fera par la suite, l'objet de perspectives de ce travail, qui seront entreprises au sein de notre équipe de recherche.

Ensuite nous avons fait une étude de viabilité cellulaire, pour évaluer l'effet des composés spiropyrazoliques **5 au 18**, et **21** sur la neuroprotection, dans un modèle *in vitro* de mort cellulaire dopaminergique, en utilisant la lignée cellulaire de neuroblastome humain SH-SY5Y. Les résultats montrent que ces spiropyrazolones, jouent un rôle important dans la neuroprotection dopaminergique, et puissent être utilisés pour des nouvelles thérapies potentielles dans le traitement de la maladie de Parkinson par exemple.

Dans une seconde partie, nous nous sommes intéressés à la réaction de Kabachnik-Fields, multi-composantes « one pot » entre la 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, les aldéhydes et triéthylphosphite catalysée par l'organocatalyseur L-proline, à température ambiante et à reflux dans l'éthanol. Cette méthode a été appliquée pour la préparation d'une nouvelle série d'organophosphorées avec de bons rendements (Figure B).

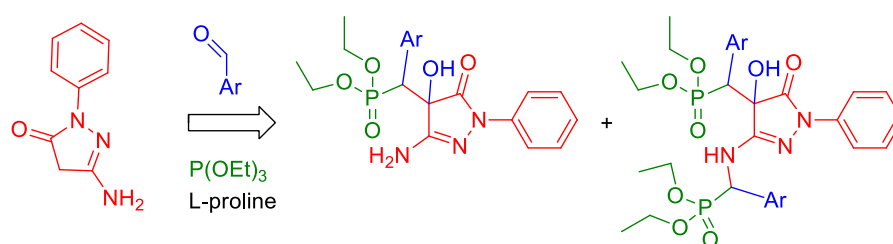


Figure B. Schéma de synthèse des dérivés α -hydroxyphosphonates

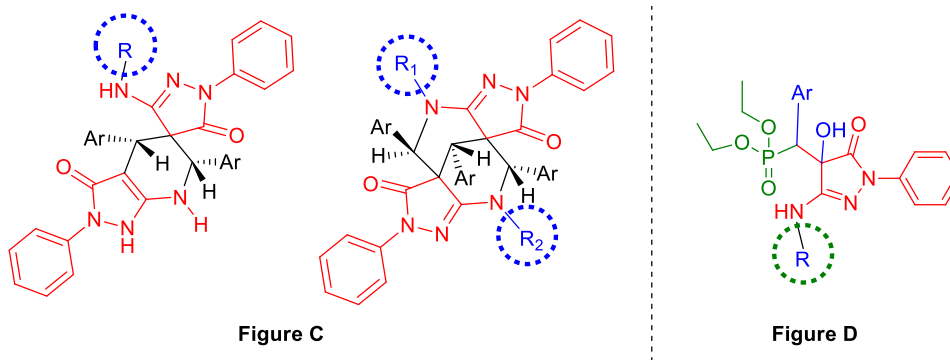
Dans la littérature les réactions de Kabachnik-Field ont été conduites en absence ou en présence de catalyseur, et conduisent à un seul produit, le α -aminophosphonate. Par contre

nos résultats montrent qu'il y a formation de deux produits totalement différents, le composé α -hydroxyphosphonates et son dérivé le α -amino- α -hydroxyphosphonates.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de deux esters de phosphonates, le composé α -hydroxyphosphonate **34** et le α -amino- α -hydroxyphosphonate d'éthyle **35**, *vis-à-vis*, deux souches bactériennes.

Enfin, les spiropyrazoliques ont été préparés, et l'évaluation de leurs activités sur différents cibles biologiques a montré leurs impacts positifs sur la neuroprotection, et le potentiel neuro-protecteur dans la neuro-dégénérescence induite par MPP+. Sans oublier les résultats très intéressants réalisés par une étude *in silico* de ces spiropyrazoles.

Afin de compléter l'étude de relations structure-activité entreprise dans cette famille, la préparation des analogues plus performants, par analogie avec la structure du composé **5** ou **6**, serait envisagée dans le futur, par la substitution de la fonction amine, présente dans ces spirocycles, par différents groupements aliphatiques, aromatiques ou / et hétéroaromatiques (Figure C).



Il serait aussi intéressant, comme perspective, de préparer de nouveaux analogues du composé **34** diversement substitués en transformant la fonction amine en amide correspondant. En plus de leurs évaluations biologiques ou / et Pharmacologiques (Figure D).

PARTIE EXPERIMENTALE

INDICATIONS GENERALES

Tous les produits chimiques ont été achetés auprès de sources commerciales et ont été utilisés sans autre purification. Les réactions ont été contrôlées par Chromatographie en couche mince sur CCM et les taches ont été examinées sous lumière UV à $\lambda = 254$ et 365 nm.

Les composés ont été caractérisés par les spectres de RMN ^1H et ^{13}C en utilisant CDCl_3 ou $\text{CDCl}_3 / \text{CD}_3\text{OD}$ comme solvant et le tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés sur un spectromètre Avance 300 Bruker à 300,13 et 75,47 MHz, respectivement. CNRST Rabat, et Appareil Bruker de 400 MHz à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) – Université d'Orléans, France.

Les autres spectres de RMN du ^1H , du carbone 13 (^{13}C) et hétérocorrélation ^1H - ^{13}C (HSQC et HMBC) ont été effectués au Portugal National NMR Network (RNRMN) (Appareil Bruker 300 et 500 MHz / Université d'Aveiro).

Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en partie par million (ppm) par rapport aux références internes appropriées à chaque type de solvant:

- Pour le proton: au tétraméthylsilane pris comme référence interne pour les spectres effectués dans le chloroforme deutéré (CDCl_3).
- Signal du solvant résiduel (2,49 ppm) dans le DMSO- d_6 .
- Pour le carbone: CDCl_3 (raie centrale à 77,16 ppm) ; DMSO- d_6 (raie centrale à 39,52 ppm).

Les constantes de couplages (J) sont exprimées en Hertz (Hz) et la multiplicité est représentée de manière suivante: singulet (**s**), doublet (**d**), doublet dédoublé (**dd**), triplet (**t**), quadruplet (**q**), multiplet (**m**), singulet large (**br**).

L'attribution des protons et des carbones 13 se fait comme suit:

H-x ou C-x : x est le numéro du proton ou du carbone 13 dans la molécule.

H-Ar ou C-Ar: proton ou carbone 13 d'origine aromatique.

Les spectres de spectrométrie de masse à électrospray (ESI-MS) en mode ion positif ont été acquis dans un instrument Q-TOF 2 (Micromass, Manchester, Royaume-Uni). Pour l'acquisition de spectres de masse, la tension de l'aiguille a été réglée à 3000 V avec la source d'ions.

Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) ont été effectués à l'Université d'Aveiro, Département de chimie et QOPNA, Université d'Aveiro, CICECO - Institut des matériaux Aveiro, Portugal.

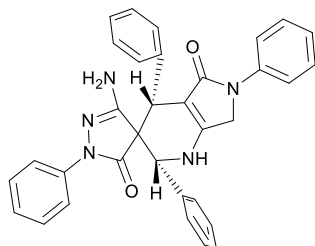
Les analyses élémentaires ont été obtenues avec un micro-analyseur LECO 630-200-200 TruSpec CHNS.

Les points de fusion ont été déterminés avec un appareil de mesure du point de fusion Büchi et ne sont pas corrigés.

La chromatographie analytique sur couche mince (CCM) a été effectuée sur des plaques commerciales de silice (aluminium recouvert d'une couche de silice de 0,2 mm d'épaisseur et contenant un indicateur fluorescent sensible aux UV ayant une longueur d'onde de 254 nm). La révélation se réalise au moyen d'une lampe ultra-violet à 254 et 365 nm puis par le diiode. La chromatographie sur colonne a été menée au moyen de silice Merck60. Les solvants des réactions utilisés sont de qualité analytique, sauf les solvants de la chromatographie sur colonne (hexane et acétate d'éthyle) sont distillés avant leur utilisation.

PARTIE I

3-Amino-1,2',4',6'-tétraphényl-1',2',6',7'-tétrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine]-3',5(1*H*,4'*H*)-dione (5)



Formule brute: C₃₂H₂₆N₆O₂
Masse moléculaire: 526,21 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

200 mg (1,14 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,3 ml (2,5 mmoles, 1,2éq) de benzaldéhyde sont dissous dans 5ml d'éthanol, puis sous agitation on ajoute une quantité d'un catalyseur, la triéthylamine ou la pyridine. Le mélange est porté à reflux dans un bain d'huile à 150 à 60 °C sous agitation pendant une heure.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu est filtré et lavé avec l'éthanol. Un solide jaune, composé **6**, est obtenu pur. Alors que le filtrat, après évaporation des solvant, est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au composé **5**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide marron

Point de fusion: 213-215 °C

Rendement: 36%

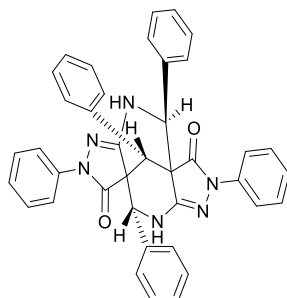
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.66 (dd, *J* = 8.7, 1.1 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.55(m, 2H, *o*-Ph-5), 7.42-7.37(m, 3H, Ph), 7.30-7.27 (m, 5H, Ph), 7.22-7.14 (m, 6H, Ph), 7.09-7.04 (m, 2H, Ph), 4.98 (s, 1 H, H-12), 4.68 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 169.4 (C-7), 158.6 (C-3 ou C-13), 156.2 (C-3 ou C-13), 138.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.1 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.3 (C-1-Ph-12), 134.5 (C-1-Ph-5), 129.5 (Ph), 129.4 (Ph), 129.1 (Ph), 128.9 (Ph), 128.8 (Ph), 128.3 (Ph), 128.2 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.4 (Ph), 121.1 (Ph), 120.0 (Ph), 84.1 (C-6), 61.4 (C-12), 60.8 (C-4), 44.2 (C-5);

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 527, [M+Na]⁺⁺ 549

Analyse élémentaire : C₃₂H₂₆N₆O₂·1/2C₂H₅OH: Calculé. C 72.11, H 5.32, N 15.29; trouvé C 72.11, H 5.32, N 15.20.

(3aS)-2,4,7,9,11-Pentaphényl-4,5,9,10-tétrahydro-3a,8a-méthanodipyrazolo[3,4-*b*:3',4'-*f*][1,5]diazocine-3,8(2*H*,7*H*)-dione (6)



Formule brute: C₃₉H₃₀N₆O₂
Masse moléculaire: 614,69 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **6** est formé lors de la préparation du composé **5** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide jaune

Point de fusion: 252-254 °C

Rendement: 60%

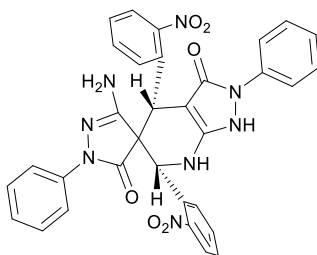
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.66-7.63 (m, 2H, *o*-Ph-12), 7.59-7.56 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.40-7.35 (m, 7H, Ph. *o*-Ph-5), 7.29-7.16 (m, 12H, Ph. *p*-Ph-12 et *p*-Ph-15), 7.07-7.01 (m, 2H, Ph), 5.32 (br d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-14), 5.15 (br d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-15), 5.10 (br d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-11), 5.04 (br d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-12), 4.04 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 166.6 (C-3 or C-10), 166.0 (C-3 or C-10), 157.5 (C-13), 157.4 (C-7), 137.1 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 137.0 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 134.49 (C-1-Ph-12 or C-1-Ph-15), 134.47 (C-1-Ph-12 or C-1-Ph-15), 132.3 (C-1-Ph-5), 129.6 (*p*-Ph-12), 129.5 (*p*-Ph-15), 129.0 (*o*-Ph-5), 128.4 (Ph), 128.35 (Ph), 128.31 (Ph), 127.9 (*o*-Ph-15), 127.8 (*o*-Ph-12), 124.9 (Ph), 124.7 (Ph), 119.4 (Ph), 118.8 (Ph), 67.7 (C-12), 61.0 (C-15), 56.9 (C-4), 54.5 (C-6), 46.9 (C-5);

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 615, [M+Na]⁺ 637, [M+K]⁺ 653;

Analyse élémentaire : C₃₉H₃₀N₆O₂ · 2C₂H₅OH: Calculé. C 73.03, H 5.99, N 11.89; trouvé C 73.30, H 5.80, N 12.00.

(4S)-3-Amino-4',6'-bis(2-nitrophényl)-1,2'-diphényl-1',2',6',7'-tétrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine]-3',5(1*H*,4'*H*)-dione (7)



Formule brute: C₃₉H₂₄N₈O₆
Masse moléculaire: 616,59 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 517 mg (3,42 mmoles, 1,2éq) de 2-nitro-benzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux, sous agitation pendant 2 heures et demi.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité ainsi obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide jaune obtenu, composé **8**, est pur. Alors que le filtrat évaporé, est purifié par Chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au composé **7**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide Jaune marron

Point de fusion: 215-217 °C

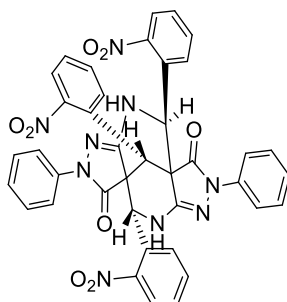
Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.90 (dd, *J* = 7.5, 3.7 Hz, 1H, *o*-Ph-12), 7.70(m, 1H, *o*-Ph-5), 7.64-7.50 (m, 3H, Ph), 7.45-7.30 (m, 5H, Ph), 7.28-7.05 (m, 6H, Ph), 7.0-6.90 (m, 2H, Ph), 5.76 (s, 1 H, H-12), 5.07 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.1 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 157.2 (C-3 ou C-13), 138.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.1 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 143.1 (C-1-Ph-12), 142.3 (C-1-Ph-5), 129.5 (Ph), 129.4 (Ph), 129.1 (Ph), 128.9 (Ph), 128.8 (Ph), 128.3 (Ph), 128.2 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.4 (Ph), 121.1 (Ph), 120.0 (Ph), 84.1 (C-6), 62.9 (C-12), 60.8 (C-4), 45.6 (C-5).

m/z: 617.2 100%.

(3aS)-4,9,11-tris(2-nitrophényl)-2,7-diphényl-4,5,9,10-tétrahydro-3a,8a-méthanodipyrázolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (8)



Formule brute: C₃₉H₂₇N₉O₈

Masse moléculaire: 750 g.mol⁻¹

Mode opératoire

Le composé **8** est formé lors de la préparation du composé **7** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide jaune

Point de fusion: 252-254 °C

Rendement: 67%

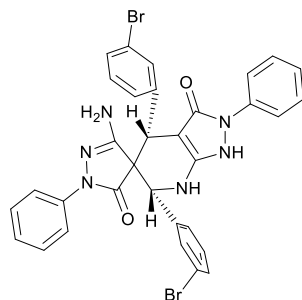
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.0-7.85 (m, 1H, *o*-Ph-12), 7.77-7.69 (m, 1H, *o*-Ph-15), 7.40-7.35 (m, 6H, Ph, *o*-Ph-5), 7.48-7.25 (m, 8H, Ph), 7.15-7.05 (m, 2H, *p*-Ph-12, *p*-Ph-15), 7.0-6.93 (m, 2H, Ph), 5.84 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-14), 5.28 (br d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-15), 5.27 (br d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-11), 5.10 (br d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-12), 3.32 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 167.6 (C-3 or C-10), 167.0 (C-3 or C-10), 159.5 (C-13), 159.4 (C-7), 137.1 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 137.0 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 144.49 (C-1-Ph-12 or C-1-Ph-15), 144.47 (C-1-Ph-12 or C-1-Ph-15), 142.3 (C-1-Ph-5), 130.6 (*p*-Ph-12), 130.5 (*p*-Ph-15), 130.0 (*o*-Ph-5), 128.4 (Ph), 128.35 (Ph), 128.31 (Ph), 128.9 (*o*-Ph-15), 128.8 (*o*-Ph-12), 124.9 (Ph), 124.7 (Ph), 119.4 (Ph), 118.8 (Ph), 69.6 (C-12), 63.0 (C-15), 56.9 (C-4), 54.5 (C-6), 47.9 (C-5);

SM (IS): m/z: 749 (100.0%), 750 (46.1%), 751 (12.0%), 752 (2.3%)

Analyse élémentaire : C₃₉H₂₇N₉O₈ Calculé. C, 62.48; H, 3.63; N, 16.82; O, 17.07.

**(4S)-3-Amino-4',6'-bis(3-bromophényl)-1,2'-diphényl-1',2',6',7'-
tétrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5-(1*H*,4'*H*)-dione (9)**



Formule brute: C₃₉H₃₀Br₂N₆O₂
Masse moléculaire: 684,39 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,4 ml (3,42 mmoles, 1,2éq) de 3-bromo-benzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant une heure. Après refroidissement à température ambiante, le précipité ainsi filtré et lavé avec l'éthanol. Le produit solide obtenu, composé **9**, est pur. Alors que le filtrat évaporé, est purifié par Chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au composé **10**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide beige

Point de fusion: 264-266°C

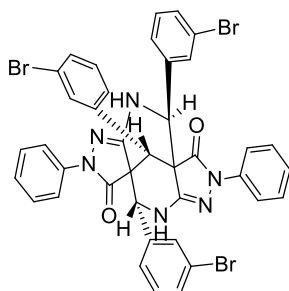
Rendement: 46%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.68 (d, *J* = 3Hz, 1H, *o*-Ph-12), 7.59(d, *J* = 3Hz, 1H, *o*-Ph-5), 7.59(dd, *J*=8.5Hz, *J*=4.2Hz, 1H, Ph), 7.45-7.35(m, 8H, Ph), 7.3-6.90 (m, 7H, Ph), 4.90 (s, 1 H, H-12), 4.58 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 169.3 (C-7), 158.5 (C-3 ou C-13), 156.1 (C-3 ou C-13), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.0 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.2 (C-1-Ph-12), 134.4 (C-1-Ph-5), 129.4 (Ph), 129.2 (Ph), 129.0 (Ph), 128.7 (Ph), 128.7 (Ph), 128.2 (Ph), 128.1 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.3 (Ph), 121.0 (Ph), 120.0 (Ph), 84.0 (C-6), 61.3 (C-12), 60.78 (C-4), 44.1 (C-5);

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 685,1.

(3aS)-4,9,11-tris(3-bromophényl)-2,7-diphényl-4,5,9,10-tétrahydro-3a,8a-méthanodipyrazolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (10)



Formule brute: C₃₉H₂₇Br₃N₆O₂

Masse moléculaire: 851 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **10** est obtenu lors de la préparation du composé **9** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 252-254°C

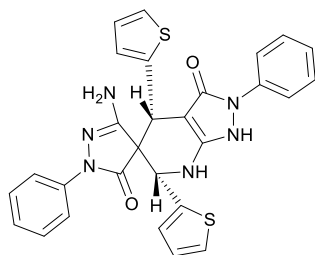
Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.68 (d, J = 6.7, 2H, *o*-Ph-12), 7.64-7.57 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.54-7.47 (m, 2H, *o*-Ph-5), 7.45-7.32 (m, 8H, Ph, *m*-Ph-5), 7.27-7.10 (m, 5H, Ph), 7.05-6.93 (m, 2H, *p*-Ph-12, *p*-Ph-15), 5.39 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-14), 5.30 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-15), 5.27 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-11), 4.90 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-12), 4.59 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 167.4 (C-3 or C-10), 167.1 (C-3 or C-10), 159.3 (C-13), 159.5 (C-7), 137.0 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 136.9 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 144.48 (C-1-Ph-12 ou C-1-Ph-15), 144.46 (C-1-Ph-12 ou C-1-Ph-15), 142.3 (C-1-Ph-5), 130.7 (*p*-Ph-12), 130.6 (*p*-Ph-15), 130.4 (*o*-Ph-5), 128.3 (Ph), 128.2 (Ph), 128.30 (Ph), 128.7 (*o*-Ph-15), 128.6 (*o*-Ph-12), 124.7 (Ph), 124.6 (Ph), 119.2 (Ph), 118.6 (Ph), 70.2 (C-12), 64.1 (C-15), 57.9 (C-4), 55.3 (C-6), 48.8 (C-5);

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 852.

(4S)-3-Amino-1,2'-diphenyl-4',6'-di(thiophen-2-yl)-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (11)



Formule brute: C₂₈H₂₂N₆O₂S₂
Masse moléculaire: 539 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,3 ml, (3,42 mmoles, 1,2éq) de Thiophene-2-carboxaldehyde sont dissous dans 5ml d'éthanol, puis sous l'agitation on ajoute une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 2 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité est filtré et lavé avec l'éthanol. Un solide blanc, composé **11**, est obtenu pur.

L'évaporation du filtrat et la purification, par chromatographie sur colonne de gel de silice, conduit au composé **12**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide beige

Point de fusion: 185-187 °C

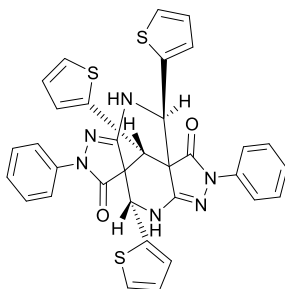
Rendement: 44%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.62 (d, *J* = 3.7Hz, 1H, CH-S-12), 7.58(d, *J* = 3.7Hz, 1H, CH-S-5), 7.38-7.30(m, 2H, CH-CH-S), 7.25-7.11(m, 5H, Ph), 7.06-6.99 (m, 3H, Ph), 7.95-6.91(d, *J* = 1.5Hz, 1H, CH-S-12), 6.87-6.83(m, 1H, CH-S-5), 6.79-6.75 (m, 2H, Ph), 5.17 (s, 1 H, H-12), 4.90 (s, 1H, H-5);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.3 (C-7), 168.5 (C-3 ou C-13), 156.1 (C-3 ou C-13), 137.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.0 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 155.2 (C-1-S-12), 134.4 (C-1-S-5), 127.3 (C-S), 128.6 (C-C-S-), 120.5 (C-C-S-), 129.4 (Ph), 129.2 (Ph), 129.0 (Ph), 128.7 (Ph), 128.7 (Ph), 128.2 (Ph), 128.1 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.3 (Ph), 121.0 (Ph), 120.0 (Ph), 83.0 (C-6), 69.3 (C-12), 62.7 (C-4), 50.1 (C-5);

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 538,12.

(3a*S*)-2,7-diphenyl-4,9,11-tri(thiophen-2-yl)-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-*b*:3',4'-*f*][1,5]diazocine-3,8(2*H*,7*H*)-dione (12)



Formule brute: C₃₃H₂₄N₆O₂S₃
Masse moléculaire : 632.80 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **12** est obtenu lors de la préparation du composé **11** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 167-169 °C

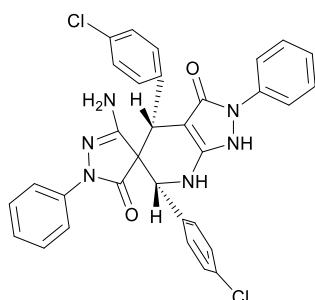
Rendement: 55%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.19 (d, J=1.8 Hz, 1H, CH-S-12), 7.91 (dd, J=9.3 Hz, 1.8 Hz, 1H, CH-S-15), 7.85 (d, J=1.8 Hz, 1H, CH-S-5), 7.74-7.70(m, 1H, CH-C-S-12), 7.62-7.56(m, 1H, CH-C-S-15), 7.54-7.44 (m, 1H, CH-C-S-5), 7.42-7.39(m, 1H, CH-CH-S-12), 7.38-7.25 (m, 5H,Ph), 7.19-7.06 (m, 3H, Ph), 7.05-7.0.(m, 1H, CH-CH-S-15), 6.90.-6.88(m, 1H, CH-CH-S-5), 6.85-6.75(m, 2H,Ph), 5.67 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-14), 5.55 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-15), 5.36(d, J = 3.0 Hz, 1H, H-11), 5.31 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-12), 4.86 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm)167.6 (C-3 or C-10), 167.3(C-3 or C-10), 159.6 (C-13), 159.9 (C-7), 137.5 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 137.2 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 144.48 (C-1-S-12 or C-1-S-15), 144.46 (C-1-S-12 or C-1-S-15), 142.3 (C-1-S-5), 130.7 (C-S-12), 130.6 (C-S-15), 130.4 (C-S-5), 129.7 (C-C-S-15), 129.6 (C-C-S-12), 129.4 (C-C-S-5),128.3 (Ph), 128.2 (Ph), 128.30 (Ph), 124.7 (Ph), 124.6 (Ph), 119.2 (Ph), 118.6 (Ph), 71.2 (C-12), 65.1 (C-15), 58.9 (C-4), 56.3 (C-6), 49.8(C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺633.2.

(4S)-3-Amino-4',6'-bis(4-chlorophenyl)-1,2'-diphenyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (13)



Formule brute: C₃₂H₂₄ Cl₂N₆O₂
Masse moléculaire: 595.49 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,4 ml (3,42 mmol ; 1,2éq) de 4-chloro-benzaldéhyde sont dissous dans 5ml d'éthanol, puis sous agitation on ajoute une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant une heure. Après refroidissement à température ambiante, le précipité ainsi filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide, composé **13**, obtenu est pur.

Alors que le filtrat évaporé est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au composé **14**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc cassé

Point de fusion: 231-233 °C

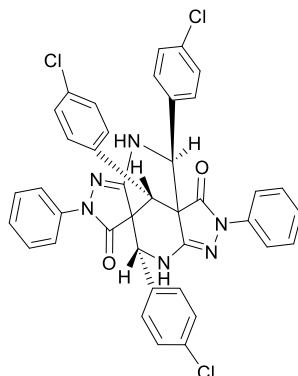
Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.66 (dd, *J* = 8.5, 1.1 Hz, 2H, *o*-N-Ph), 7.53(d, *J* = 8.5 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.43-7.37(m, 2H, N-Ph), 7.32-7.06 (m, 12H, *m*-Ph-5, *m*-Ph-12, Ph), 5.01 (s, 1H, H-12), 4.32 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 169.4 (C-7), 158.5 (C-3 ou C-13), 156.4 (C-3 ou C-13), 138.7 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.4 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.6 (C-1-Ph-12), 134.2 (C-1-Ph-5), 130.7(Ph), 130.2 (Ph), 129.5 (Ph), 128.9 (Ph), 129.1 (Ph), 128.8 (Ph), 128.4 (Ph), 128.3 (Ph) 126.2 (Ph), 125.4 (Ph), 121.1 (Ph), 120.8 (Ph), 120.4(Ph), 83.9 (C-6), 61.2 (C-12), 61.1 (C-4), 44.1 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 595,2.

(3aS)-4,9,11-tris(4-chlorophenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrazolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (14)



Formule brute: C₃₉H₂₇Cl₃N₆O₂
Masse moléculaire: 718.4 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **14** est obtenu formé lors de la préparation du composé **13** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: marron rouge

Point de fusion: 209-211 °C

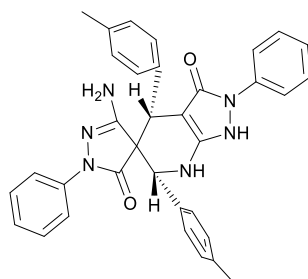
Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.57-7.50 (m, 2H, *o*-Ph-12), 7.49-7.43 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.41-7.29 (m, 6H, Ph, *m*-Ph-5), 7.27-7.13 (m, 10H, Ph, *m*-Ph-12, *m*-Ph-15), 7.11-7.02 (m, 2H, Ph), 5.5 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.13 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.05 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.99 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.02 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 166.2 (C-3 ou C-10), 165.8 (C-3 ou C-10), 157.0 (C-13), 156.9 (C-7), 136.7 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 136.4 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.6 (C-1-Ph-12 ou C-1-Ph-15), 134.47 (C-1-Ph-12 ou C-1-Ph-15), 135.6 (C-1-Ph-5), 132.7 (*p*-Ph-12), 130.9 (*p*-Ph-15), 130.5 (*o*-Ph-5), 130.2 (Ph), 129.5 (Ph), 129.31 (Ph), 128.9 (*o*-Ph-15), 128.6 (*o*-Ph-12), 125.4 (Ph), 125.2 (Ph), 119.24 (Ph), 118.86 (Ph), 67.1 (C-12), 60.3 (C-15), 56.7 (C-4), 54.2 (C-6), 46.2 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺719,2.

(4S)-3-Amino-1,2'-diphenyl-4',6'-di-p-tolyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (15)



Formule brute: C₃₄H₃₀N₆O₂
Masse moléculaire: 554,65 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmol, 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,4 ml (3,42 mmol ; 1,2 éq) de 3-méthyl-benzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous l'agitation on ajoute une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant trois heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité filtré est lavé avec l'éthanol. Le solide, composé **15**, obtenu est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 261-263°C

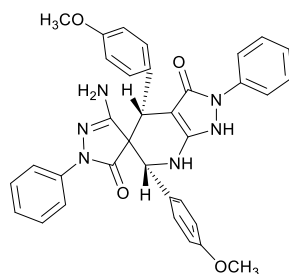
Rendement: 92%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.60 (dd, *J* = 7.5, 3.7 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.52-7.45(m, 2H, *o*-Ph-5), 7.4-7.23 (m, 5H, Ph), 7.20-7.05 (m, 5H, Ph), 7.03-6.98 (m, 2H, Ph), 6.95-6.88 (m, 2H, Ph), 4.87 (s, 1 H, H-12), 4.58 (s, 1H, H-5); 2.23-2.10 (m, 6H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 169.4 (C-7), 158.6 (C-3 ou C-13), 156.2 (C-3 ou C-13), 138.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.1 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.0 (C-1-Ph-12), 134.2 (C-1-Ph-5), 129.5 (Ph), 129.4 (Ph), 129.1 (Ph), 128.9 (Ph), 128.8 (Ph), 128.3 (Ph), 128.2 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.4 (Ph), 121.1 (Ph), 120.0 (Ph), 84.1 (C-6), 61.2 (C-12), 60.8 (C-4), 44.1 (C-5); 20,4(C- CH₃).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 655,3.

(4S)-3-Amino-4',6'-bis(4-methoxyphenyl)-1,2'-diphenyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (16)



Formule brute: C₃₄H₃₀N₆O₄
Masse moléculaire: 586.65 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmol, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,42 ml(3,42 mmol ; 1,2éq) de 4-methoxy-benzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous l'agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 4 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité ainsi obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide, composé **16**, obtenu est pur.

Alors que le filtrat est purifié par Chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au même composé **16**

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc cassé

Point de fusion: 207-209°C

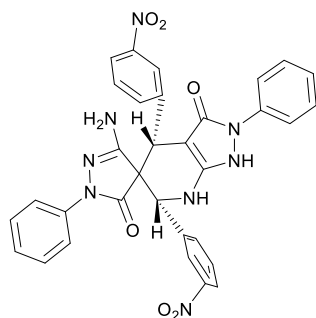
Rendement: 95%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 4.88 (s, 1H, H-12), 4.58 (s, 1H, H-5); 3.70(s, 3H, OCH₃), 3.62 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 85.3 (C-6), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 54.9 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 587.3, [M+Na]⁺ 609.3, [M+K]⁺ 625.3.

(4S)-3-Amino-4',6'-bis(3-nitrophenyl)-1,2'-diphenyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (17)



Formule brute: C₃₂H₂₄N₈O₆
Masse moléculaire: 616.59 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 517 mg (3,42 mmol ; 1,2 éq) de 3-nitro-benzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 4 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **17**, est pur.

Alors que le filtrat est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire au composé **17**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide Jaune orange

Point de fusion: 229-231 °C

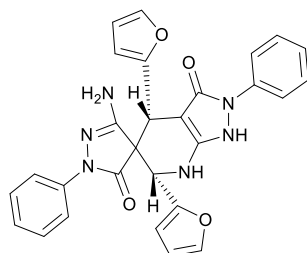
Rendement: 96%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.48 (d, J = 3Hz, 1H, *o*-Ph-12), 8.23(d, J = 3Hz, 1H, *o*-Ph-5), 8.09(dd, J=7.3, 1.3Hz, 1H, *m*-Ph-12), 7.98(dd, J=7.3, 1.3Hz, 1H, *m*-Ph-5), 7.84 (d, J= 7.8Hz, 1H, *o*-Ph-12), 7.66(dd, J=8.7, 1.1Hz, 1H, Ph), 7.61 (d, J= 7.8Hz, 1H, *o*-Ph-5) 7.49-7.41 (m, 1H, Ph), 7.38-7.25(m, 7H, Ph), 7.20-7.05 (m, 4H, Ph), 7.04-6.95(m, 1H, Ph), 5.1 (s, 1 H, H-12), 4.8 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.6 (C-7), 158.9 (C-3 ou C-13), 156.8 (C-3 ou C-13), 139.9 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 136.4 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 130.8 (Ph), 130.4 (Ph), 130.1 (Ph), 129.6 (Ph), 128.8 (Ph), 128.5 (Ph), 128.2 (Ph), 128.0 (Ph), 126.8 (Ph), 125.6 (Ph), 121.7 (Ph), 121.4 (Ph), 120.9 (Ph), 85.2 (C-6), 61.3 (C-12), 60,8 (C-4), 45.5 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 617,3.

(4S)-3-Amino-4',6'-di(furan-2-yl)-1,2'-diphenyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine]-3',5(1*H*,4'*H*)-dione (18)



Formule brute: C₂₈H₂₂N₆O₄
Masse moléculaire: 506.52 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,3 ml, (3,42 mmoles, 1,2éq) de furfural sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 2 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide, composé **18**, obtenu est pur.

Alors que le filtrat est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire aux composés **19** et **20**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide noir

Point de fusion: 135-137 °C

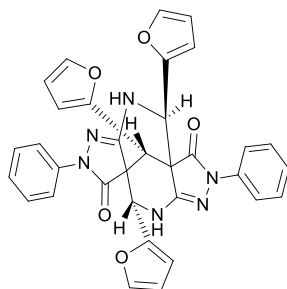
Rendement: 35%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.02 (d, *J* = 3.1Hz, 1H, CH-O-12), 7.98(d, *J* = 3.1Hz, 1H, CH-O-5), 7.78-7.70 (m, 2H, CH-CH-O), 7.64-7.51(m, 5H, Ph), 7.46-7.40 (m, 3H, Ph), 7.36-7.32(d, *J* = 1.5Hz, 1H, CH-O-12), 7.27-7.24(m, 1H, CH-O-5), 7.20-7.15 (m, 2H, Ph), 5.57 (s, 1 H, H-12), 5.30 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.3 (C-7), 168.5 (C-3 ou C-13), 156.1 (C-3 ou C-13), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.0 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 152.2 (C-1-O-12), 150.4 (C-1-O-5), 148.3 (C-O), 110.6 (C-C-O-), 105.5 (C-C-O-), 129.4 (Ph), 129.2 (Ph), 129.0 (Ph), 128.7 (Ph), 128.7 (Ph), 128.2 (Ph), 128.1 (Ph), 128.0 (Ph), 126.0 (Ph), 125.0 (Ph), 121.3 (Ph), 121.0 (Ph), 120.0 (Ph), 85.0 (C-6), 66.3 (C-12), 61.7 (C-4), 49.1 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 507,3.

(3aS)-4,9,11-tri(furan-2-yl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (19)



Formule brute: C₃₃H₂₄N₆O₅
Masse moléculaire: 584 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **19** est obtenu lors de la préparation du composé **18** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide noire

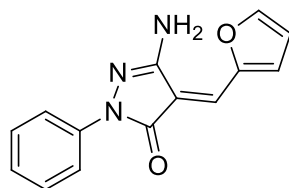
Point de fusion: 233-235 °C

Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.6 (d, J=1.6Hz, 1H, CH-O-12), 8.4 (dd, J=1.8Hz, 3.3Hz, 1H, CH-O-15), 8.2 (d, J=1.8, 1H, CH-O-5), 7.98-7.90(m, 1H, CH-C-O-12), 7.82-7.78 (m, 1H, CH-C-O-15), 7.74-7.64(m, 1H, CH-C-O-5), 7.52-7.49(m, 1H, CH-CH-O-12), 7.46-7.40 (m, 5H,Ph), 7.39-7.33 (m, 3H, Ph), 7.30-7.26 (m, 1H, CH-CH-O-15), 7.10.-7.00(m, 1H, CH-CH-O-5), 6.95-6.85(m, 2H,Ph), 6.77 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-14), 6.65 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-15), 6.56(d, J = 3.0 Hz, 1H, H-11), 6.41 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-12), 5.96 (s, 1H, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 169.6 (C-3 or C-10), 169.3(C-3 or C-10), 160.5 (C-13), 160.8 (C-7), 138.6 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 138.3 (C-1-NPh-1 or C-1-NPh-8), 155.78 (C-O-12 or C-O-15), 155.76 (C-O-12 or C-O-15), 155.66 (C-O-5), 143.7 (C-O-12), 143.6 (C-O-15), 143.4 (C-O-5), 117.9 (C-C-O-15), 117.7 (C-C-O-12), 117.5 (C-C-O-5), 128.3 (Ph), 128.3 (Ph), 128.4 (Ph), 124.8 (Ph), 124.7 (Ph), 120.2 (Ph), 119.6 (Ph), 72.2 (C-12), 66.1 (C-15), 59.9 (C-4), 57.3 (C-6), 50.8(C-5).

(E)-3-Amino-4-(furan-2-ylmethylene)-1-phenyl-1H-pyrazol-5(4H)-one (20)



Formule brute: C₁₄H₁₁N₃O₂
Masse moléculaire: 253 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **20** est obtenu lors de la préparation du composé **18** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide noir

Point de fusion: 98-100°C

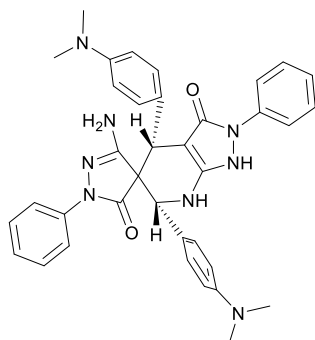
Rendement: 20%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) :δ (ppm) 8.6 (s, 2H, NH₂), 8.4 (m, 1H, furan), , 8.2 (m, 1H, furan), 7.98-7.90 (m, 2H, Ph), 7.46-7.40 (m, 2H, Ph), 7.30-7.26 (m, 1H, Ph), 6.95 (m, 1H, furan), 6.65 (s, CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz):δ (ppm) 165.6 (C=O), 155.76 (N=C-NH₂), 150.66 (furan), 145,7 (furan), 143.7 (CH=C), (C-O-12), 141.6 (C-N), 134.4 (C=C), 128.9 (Ph), 128.4 (Ph), 119.6 (Ph), 112,7 (furan), 110 (furane).

m/z: 253 (100.0%), 254 (16.5%), 255 (1.7%).

(4S)-3-Amino-4',6'-bis(4-(diméthylamino)phényl)-1,2'-diphenyl-1',2',6',7'-tetrahydrospiro[pyrazole-4,5'-pyrazolo[3,4-b]pyridine]-3',5(1H,4'H)-dione (21)



Formule brute: C₃₆H₃₆N₈O₂
Masse moléculaire: 612,74 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 510 mg, (3,42 mmol ; 1,2éq) de 4-diméthylbenzaldéhyde sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajoutée une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant deux heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **21**, est pur.

Alors que le filtrat est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice pour conduire aux composés **22** et **23**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide marron foncé

Point de fusion: 133-135°C

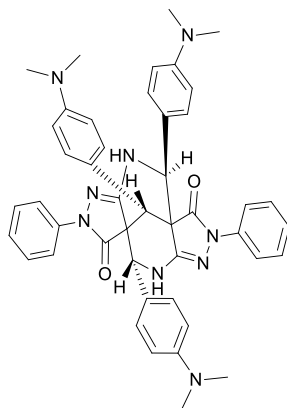
Rendement: 36%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.54 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 8.08 (d, *J* = 9 Hz, 1H, *o*-Ph-5), 7.97 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *m*-Ph-12), 7.91-7.83 (m, 1H *o*-Ph-5), 7.77-7.68 (m, 1H, *m*-Ph-5), 7.45-7.31 (m, 4H, Ph), 7.22-7.05 (m, 4H, Ph), 6.81-6.67 (m, 3H, NCH₃), 6.71 (s, 1 H, H-12), 3.75 (s, 1H, H-5), 3.70(s, 3H, NCH₃), 3.62(m, 9H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.2 (C-7), 160.5 (C-3 ou C-13), 158.6 (C-3 ou C-13), 140.8 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 139.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.7 (C-1-Ph-12), 136.2 (C-1-Ph-5), 132.8(Ph), 132.1 (Ph), 130.6 (Ph), 129.7 (Ph), 129.5 (Ph), 128.6 (Ph), 128.2 (Ph), 127.3 (Ph), 126.5 (Ph), 125.6 (Ph), 122.4 (Ph), 120.9 (Ph), 120.2 (Ph), 86.5 (C-6), 62.6 (C-12), 61.9 (C-4), 46.1 (C-5).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 613,4.

(3a*S*,11*R*)-4,9-bis(4-(dimethylamino)phenyl)-2,7,11-triphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrazolo[3,4-*b*:3',4'-*f*][1,5]diazocine-3,8(2*H*,7*H*)-dione (22)



Formule brute: C₄₅H₄₅N₉O₂
Masse moléculaire: 743,92 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **22** est obtenu lors de la préparation du composé **21** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

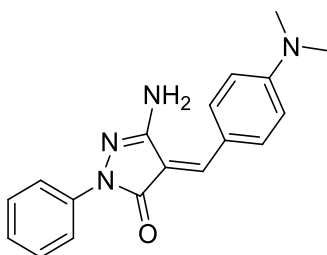
Point de fusion: 273-275 °C

Rendement: 48%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.54 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 8.08 (d, *J* = 9 Hz, 1H, *o*-Ph-5), 7.97 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *m*-Ph-12), 7.91-7.83 (m, 1H *o*-Ph-5), 7.77-7.68 (m, 1H, *m*-Ph-5), 7.45-7.31 (m, 4H, Ph), 7.22-7.05 (m, 4H, Ph), 6.81-6.67 (m, 3H, NCH₃), 6.71 (s, 1 H, H-12), 3.75 (s, 1H, H-5), 3.80(s, 3H, NCH₃), 3.70(s, 3H, NCH₃), 3.62(m, 9H, NCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 170.2 (C-7), 160.5 (C-3 ou C-13), 158.6 (C-3 ou C-13), 140.8 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 139.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.7 (C-1-Ph-12), 137.8 (C-1-Ph-15), 136.2 (C-1-Ph-15), 135.5 (*p*-Ph-15), 134.9 (*o*-Ph-15), 136.2 (C-1-Ph-5), 132.8 (Ph), 132.1 (Ph), 130.6 (Ph), 129.7 (Ph), 129.5 (Ph), 128.6 (Ph), 128.2 (Ph), 127.3 (Ph), 126.5 (Ph), 125.6 (Ph), 122.4 (Ph), 120.9 (Ph), 120.2(Ph), 86.5 (C-6), 62.6 (C-12), 61.9 (C-4), 46.1 (C-5), 30,42 (CH₃), 30,12 (CH₃), 29,8 (CH₃).

(E)-3-Amino-4-(4-(dimethylamino) benzylidène)-1-phenyl-1H-pyrazol-5(4H)-one (23)



Formule brute: C₁₈H₁₈N₄O
Masse moléculaire: 306 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **23** est obtenu selon la préparation du composé **21** (Voir la procédure de préparation de produit **21**).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide jaune marron

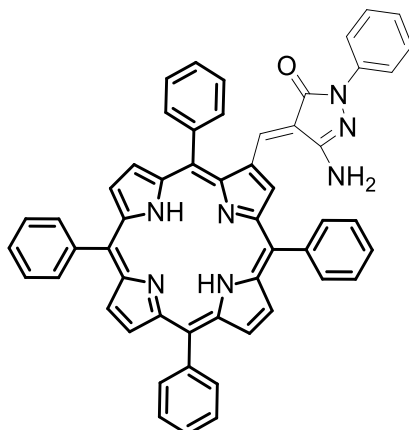
Point de fusion: 102-104 °C

Rendement: 15%

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) :δ (ppm) 8.62 (s, 2H, NH₂), 8.38 (m, 2H, Ph), , 8.2 (m, 2H, Ph), 7.98-7.90 (m, 2H, Ph), 7.46-7.40 (m, 1H, Ph), 7.30-7.26 (m, 2H, Ph), 6.77 (m, 1H, furan), 7.65 (s, CH), 3.65 (s, CH₃), 3.63 (s, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 165.6 (C=O), 155.76 (N=C-NH₂), 150.66 (C(Ph)-N), 143.7 (CH=C), 141.6 (C-N), 134.4 (Ph), 128.9 (Ph), 128.4 (Ph), 126.4 (C=C), 122 (Ph), 118.6 (Ph), 112,7 (Ph).

(3a*S*,11*R*)-4,9-bis(4-(dimethylamino)phenyl)-2,7,11-triphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrazolo[3,4-*b*:3',4'-*f*][1,5]diazocine-3,8(2*H*,7*H*)-dione (24)



Formule brute: C₅₄H₃₇N₇O
Masse moléculaire: 800 g.mol⁻¹

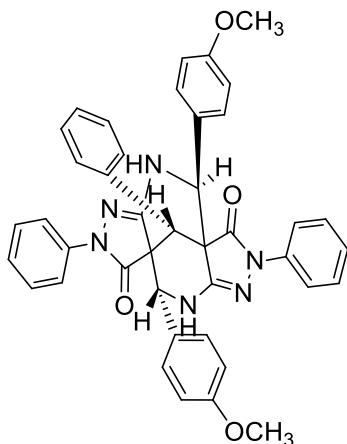
Mode opératoire :

Le composé **24** est obtenu selon la préparation du composé **21** (Voir la procédure de préparation de produit **21**).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.62 (s, 2H, NH₂), 8.87 (d, 2H, J = 4,9 Hz, CH), 8.81-8.77 (m, 3H, CH), 8.67 (d, 1H, J = 5,0 Hz, CH), 8.64 (s, 1H, CH), 8.23-8.17 (m, 4H, Ph), 8.05 (d, 2H, J = 6,8 Hz, Ph), 7.87 (d, 2H, J = 6,4 Hz, Ph), 7.80-7.63 (m, 9H, Ph), 7.48-7.43 (m, 3H, Ph), 7.98-7.90 (m, 2H, Ph), 7.46-7.40 (m, 2H, Ph), 7.30-7.26 (m, 1H, Ph), 7.65 (s, CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 167.6 (C=O), 155.76 (N=C-NH₂), 150.66 (C-NH₂), 147.7 (C-CH=C), 147.7 (NH-C=C et C-C=N), 141.4 (Ph), 140.6 (C-N), 134.4 (Ph), 132.3 (C=C-C=C), 128.9 (Ph), 128.4 (Ph), 126.4 (C=C), 122 (Ph), 120 (Ph-C=C), 118.6 (Ph), 112,7 (Ph).

(4S,11S)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7,11-triphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (25)



Formule chimique : C₄₁H₃₄N₆O₄
Masse Moléculaire : 674 g/mol

Mode opératoire :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de composé **16** et 0,11 ml (1,01 mmol ; 1,2éq) du benzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité formé, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **25**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

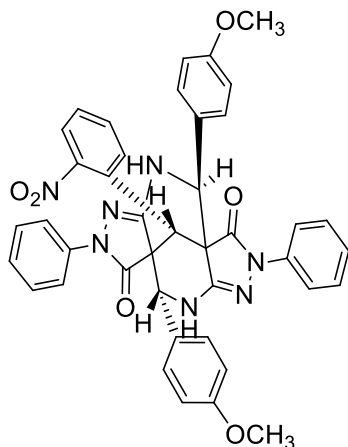
Point de fusion: 289-291 °C

Rendement: 70%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.64 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29(m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 7.05-6.93 (m, 3H, Ph-15), 5.32 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.15 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.5 (C-13), 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-10), 158.2 (C-3 ou C-10), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.5 (C-1-Ph-15), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph) 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 61.02 (C-15), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 54.5 (C-6), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-11-(2-nitrophenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dion (26)



Formule chimique : C₄₁H₃₃N₇O₆
Masse Moléculaire : 719 g/mol

Mode Opérateur :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de de composé **16** et 153 mg (1,01 mmol ; 1,2éq) du 2-nitrobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 72 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **26**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: Solide blanc

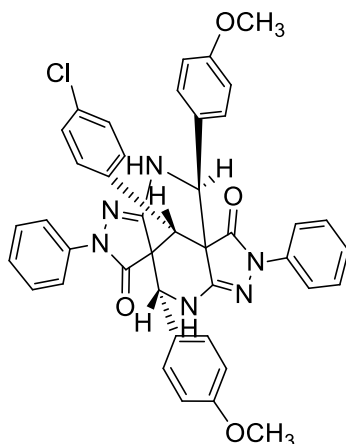
Point de fusion: 305-307 °C

Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.64 (m, 1H, *o*-Ph-15), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (dd, 2H, *p*-Ph-12), 7.05-6.93 (m, 2H, *m*-Ph-15), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 5.84 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.28 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.83 (s, 6H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.5 (C-13), 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-10), 158.2 (C-3 ou C-10), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 144.49 (C-1-Ph-15), 144.47 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 61,0.2 (C-15), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 54.5 (C-6), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-11-(4-chlorophenyl)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)dione(27)



Formule chimique : C₄₁H₃₃ClN₆O₄
Masse Moléculaire : 708 g/mol

Mode Opérateur :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de composé **16** et 142 mg (1,01 mmol ; 1,2éq) du 4-chlorobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous l'agitation on ajoute une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 29 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **27** est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: Solide blanc

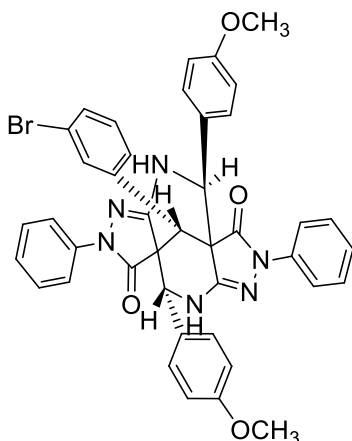
Point de fusion: 299-301 °C

Rendement: 75%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.49-7.43 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.27-7.13 (m, 2H, *m*-Ph-15), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H, *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-15), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 5.50 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.13 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (s, 1H, H-11), 4.98 (s, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.5 (C-13), 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-10), 158.2 (C-3 ou C-10), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135.6 (C-1-Ph-15), 135.5 (C-1-Ph-5), 130.6 (C-1-Ph-12), 130.9 (*p*-Ph-15), 128.9 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 60.3 (C-15), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 54.2 (C-6), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-11-(3-bromophenyl)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (28)



Formule chimique : C₄₁H₃₃BrN₆O₄
Masse Moléculaire : 752 g/mol

Mode Opératoire :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de de composé **16** et 0,12 ml (0,01 mmol ; 1,2éq) du 3-bromobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous l'agitation est ajouté une quantité d'un catalitique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 72 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité filtré, est lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, compose **28**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: Solide blanc

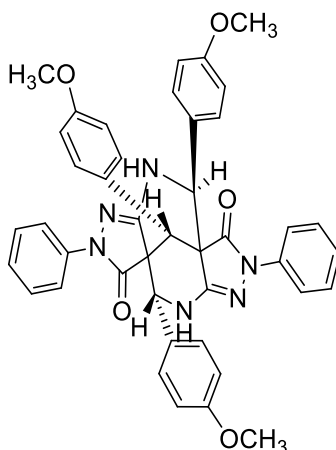
Point de fusion: 291-293 °C

Rendement: 70%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.64-7.57 (m, 1H, *o*-Ph-15), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29(m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 7.05-6.93 (m, 2H, *p*-Ph-15), 5.39 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-14), 5.30 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-15), 5.02 (s, 1H, H-11); 4.98 (s, 1 H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3,67 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 130.6 (*p*-Ph-15), 128.7 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 64.1 (C-15), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 54.9 (C-6), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-4,9,11-tris(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (29)



Formule chimique : C₄₂H₃₆N₆O₅
Masse Moléculaire : 704,27 g/mol

Mode opératoire :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de composé **16** et 0,12 ml (1,01 mmol ; 1,2éq) du 4-méthoxybenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 17 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité ainsi filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **29**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: Solide blanc

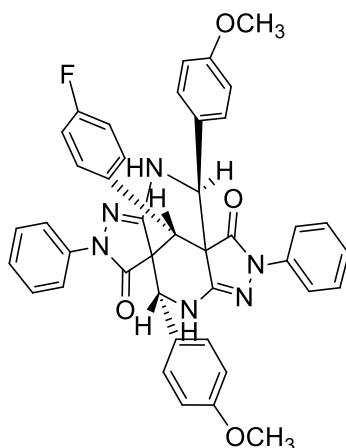
Point de fusion: 301-303 °C

Rendement: 86%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.64 (m, 1H, *o*-Ph-15), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29(m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99(m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (dd, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (dd, 2H, Ph), 7.10-6.97 (m, 2H, *p*-Ph-15), 5.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3,67 (s, 6H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 85.3 (C-6), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 54.9 (CH₃-O), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-11-(4-fluorophenyl)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (30)



Formule chimique : C₄₁H₃₃FN₆O₄
Masse Moléculaire : 692 g/mol

Mode Opérateur :

400 mg (0,84 mmol ; 1 éq) de composé **16** et 0,11 ml (1,01 mmol ; 1,2 éq) du 4-Fluorobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **30**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

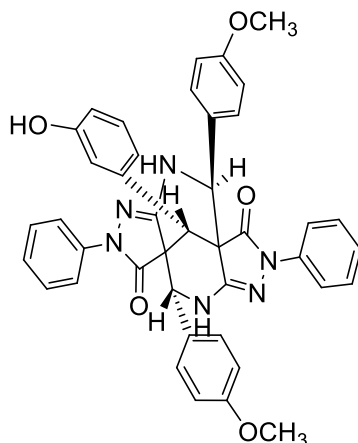
Point de fusion: 279-281 °C

Rendement: 65%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.46-7.40 (m, 2H, *o*-Ph-15), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.25-7.11 (m, 2H, *m*-Ph-15), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (dd, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (dd, 2H, Ph), 5.48 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.10 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 6H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.5 (C-13), 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-10), 158.2 (C-3 ou C-10), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 135,3 (C-1-Ph-15), 135.1 (C-1-Ph-5), 130,6 (C-1-Ph-12), 130.6 (*p*-Ph-15), 128.4 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 60,2 (C-15), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 54.4 (C-6), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-11-(3-hydroxyphenyl)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione(31)



Formule chimique : C₄₁H₃₄N₆O₅

Masse Moléculaire : 690 g/mol

Mode Opératoire :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de composé **16** et 123 mg (1,01 mmol ; 1,2éq) du 3-hydroxybenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 72 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **31**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: Solide blanc

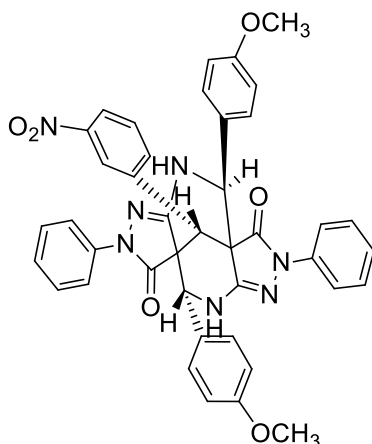
Point de fusion: 294-296 °C

Rendement: 80%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 7.79-7.75 (dd, 1H, *p*-Ph-15), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29(m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99(m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (dd, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (dd, 2H, Ph), 7.49-7.43 (m, 1H, *o*-Ph-15), 7.27-7.13 (m, 2H, *m*-Ph-15), 5.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 135,4 (C-1-Ph-15), 132.6 (*p*-Ph-15), 131.4 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph) 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 85.3 (C-6), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 54.9 (CH₃-O), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-11-(3-nitrophenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione(32)



Formule chimique : C₄₁H₃₃N₇O₆
Masse Moléculaire : 719 g/mol

Mode Opérateur :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) décomposé **16** et 152 mg (0,84 mmol ; 1,2éq) du 3-nitrobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 17 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, composé **32**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc cassé

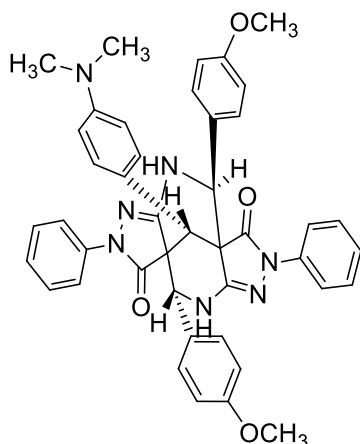
Point de fusion: 287-289 °C

Rendement: 75%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 8.48 (d, *J* = 3Hz, 2H, *o*-Ph-15), 8.23(d, *J* = 3Hz, 1H, *m*-Ph-5), 7.84 (dd, *J*=7.3, 1.3Hz, 1H, *p*-Ph-12), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 5.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.77 (s, 6H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 135.5 (C-1-Ph-5), 135,6 (C-1-Ph-15), 132.9 (*p*-Ph-15), 131.9 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 85.2 (C-6), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 55.4 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

(4S,11S)-11-(4-(dimethylamino)phenyl)-4,9-bis(4-methoxyphenyl)-2,7-diphenyl-4,5,9,10-tetrahydro-3a,8a-methanodipyrzolo[3,4-b:3',4'-f][1,5]diazocine-3,8(2H,7H)-dione (33)



Formule chimique : C₄₃H₃₉N₇O₄
Masse Moléculaire : 717 g/mol

Mode Opérateur :

400 mg (0,84 mmol ; 1éq) de composé **16** et 150 mg (1,01 mmol ; 1,2éq) du 4-diméthylaminobenzaldéhyde sont dissous dans 8 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté une quantité catalytique de triéthylamine.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 15 heures. Après refroidissement à température ambiante, le précipité obtenu, est filtré et lavé avec l'éthanol. Le solide obtenu, compose **33**, est pur.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 30/70)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 309-311 °C

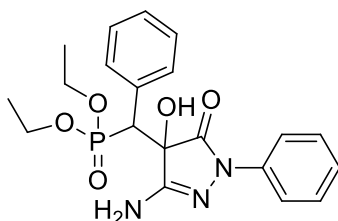
Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) : δ (ppm) 8.54 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *o*-Ph-15), 8.08 (d, *J* = 9 Hz, 2H, *m*-Ph-12), 7.91-7.83(m, 1H *p*-Ph-5), 7.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 2H, *o*-Ph-12), 7.42-7.29 (m, 3H Ph et 2H, *o*-Ph-5), 7.20-6.99 (m, 5H, Ph et 2H *p*-Ph-5), 7.79-7.75 (m, 2H, *p*-Ph-12), 7.65-7.61 (m, 2H, Ph), 5.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-14), 5.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-15), 5.02 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-11), 4.98 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H-12), 4.97 (s, 1H, H-5), 3.99 (s, 6H, NCH₃), 3.77 (s, 6H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125,76 MHz) : δ (ppm) 170.4 (C-7), 159.6 (C-3 ou C-13), 158.2 (C-3 ou C-13), 140.6 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 138.5 (C-1-NPh-1 ou C-1-NPh-8), 137.3 (C-1-Ph-12), 137.8 (C-1-Ph-15), 136.2 (C-1-Ph-15), 135.5 (*p*-Ph-15), 134.9 (*o*-Ph-15), 128.5 (Ph), 130.4 (Ph), 128.1 (Ph), 129.9 (Ph), 127.8 (Ph), 129.3 (Ph), 127.2 (Ph), 129.0 (Ph), 127.0 (Ph), 125.3 (Ph), 122.4 (Ph), 120.1 (Ph), 119.9 (Ph), 86.5 (C-6), 62.4 (C-12), 61.8 (C-4), 54.9 (CH₃-O), 55.1 (CH₃-O), 55.3 (CH₃-O), 45.2 (C-5).

PARTIE II

Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(phenyl)methyl)phosphonate (34)



Formule brute: C₂₀H₂₄N₃O₅P
Masse moléculaire: 417 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,15 ml (1,5 mmol, 1éq) de benzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4éq) de L-proline. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 2 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne pour donner les composés **34** et **35**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige

Point de fusion: 183-185 °C

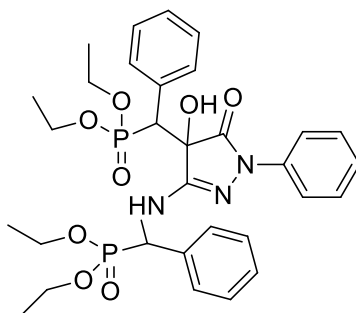
Rendement: 40%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.05-7.51 (m, 10H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 119-137.23 (Ph).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 418,15.

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)
(amino)(phenyl)methyl) diphosphate (35)**



Formule brute: C₃₁H₃₉N₃O₈P₂
Masse moléculaire: 643 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **35** est obtenu lors de la préparation du composé **34** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 115-117 °C

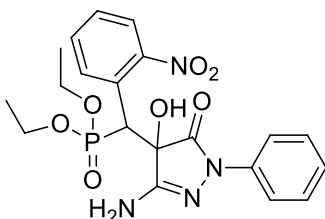
Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.78-7.70(m, 15H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.91-137.69 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

SM (IS): trouvé [M+H]⁺ 644,23.

**Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(hydroxy)
(2-nitrophenyl)methyl)phosphonate (36)**



Formule brute: C₂₀H₂₃N₄O₇P
Masse moléculaire: 462 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmol ; 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 644 mg (4,26 mmol ; 1,5éq) de 2-nitrobenzaldéhyde, 0,74 ml (4,3 mmol ; 1,5éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 131 mg (1,14 mmol ; 0,4éq) de L-proline. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne pour donner les composés **36** et **37**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune claire

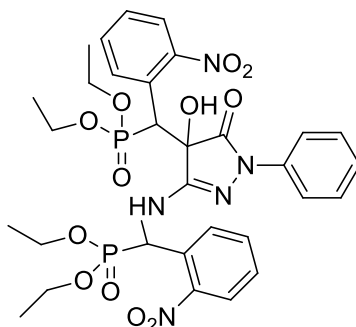
Point de fusion: 159-161 °C

Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.19-7.64 (m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 121-139.23 (Ph).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)(hydroxy)
(2(2-nitrophenyl)methyl) diphosphonate (37)**



Formule brute: C₃₁H₃₇N₅O₁₂P₂
Masse moléculaire: 733 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **37** est obtenu lors de la préparation du composé **36** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide marron

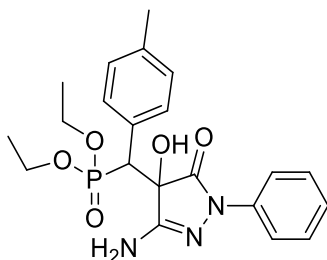
Point de fusion: 121-123 °C

Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 7.08-7.84 (m, 13H, Ph),

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 120.1-139.69 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

**Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(p-tolyl)methyl)phosphonate (38)**



Formule brute: C₂₁H₂₆N₃O₅P
Masse moléculaire: 431 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmoles, 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,20 ml (1,7 mmol ; 1,5 éq) de 4-méthylbenzaldéhyde, 0,74 ml (4,3 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 131 mg (1,14 mmoles, 0,4 éq) de L-proline. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 2h30.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **38** et **39**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune claire

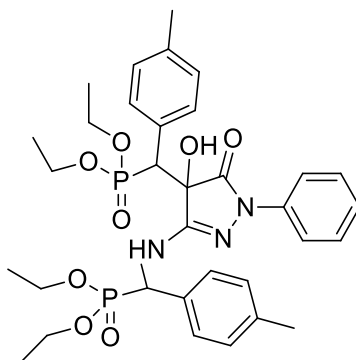
Point de fusion: 145-147 °C

Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.34 (s, 3H, Ph-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.06-7.75(m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 121-139.23 (Ph).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)
(amino)(2(p-tolyl)methyl)diphosphonate (39)**



Formule brute: C₃₃H₄₃N₅O₈P₂
Masse moléculaire: 672 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **39** est obtenu lors de la préparation du composé **38** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide marron

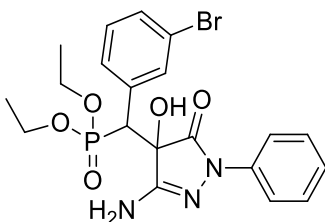
Point de fusion: 111-113 °C

Rendement: 55%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.34 (s, 6H, Ph-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 7.0-7.80 (m, 13H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.75 (CH), 51.16 (CH), 52.78 (CH), 54.32 (CH), 62.94 (O-CH₂), 63.29 (O-CH₂), 63.38 (O-CH₂), 63.85 (O-CH₂), 79.19 (OH-C-P), 79.27 (OH-C-P), 120.5-139.74 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.20 (-C=O).

**Diethyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(3-bromophenyl)methyl)phosphonate (40)**



Formule brute: C₂₀H₂₃BrN₃O₅P
Masse moléculaire: 496 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

500 mg (2,85 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,2 ml (1,7 mmol ; 1,5 éq) de 3-bromobenzaldéhyde, 0,5 ml (4,27 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 131 mg (1,14 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 3 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **40** et **41**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige.

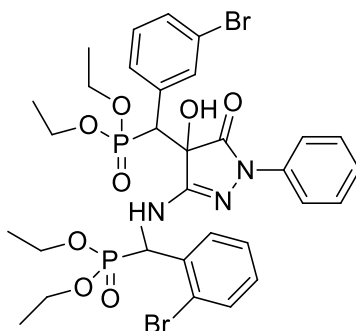
Point de fusion: 153-155 °C

Rendement: 20%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.34 (s, 3H, Ph-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.16-7.85(m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 122-140.13 (Ph).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)
(amino)(2(2-bromophenyl))methyl)diphosphonate (41)**



Formule brute: C₃₁H₃₇Br₂N₃O₈P₂

Masse moléculaire: 799 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **41** est obtenu lors de la préparation du composé **40** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide marron

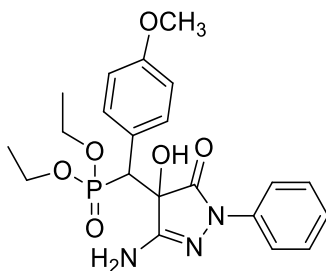
Point de fusion: 111-113 °C

Rendement: 56%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.34 (s, 6H, Ph-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.99-7.75 (m, 13H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.75 (CH), 51.16 (CH), 52.78 (CH), 54.32 (CH), 62.94 (O-CH₂), 63.29 (O-CH₂), 63.38 (O-CH₂), 63.85 (O-CH₂), 79.19 (OH-C-P), 79.27 (OH-C-P), 120.0-139.70 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.20 (-C=O).

**Diethyl ((3-amino-4-hydroxy -5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(4-methoxyphenyl)methyl)phosphonate (42)**



Formule brute: C₂₁H₂₆N₃O₆P
Masse moléculaire: 447 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,5 ml (4,27 mmol ; 1 éq) de 4-methoxybenzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant une 1h30min. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **42** et **43**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige

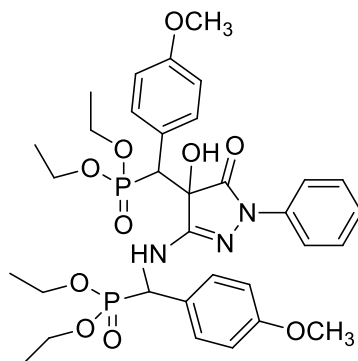
Point de fusion: 257-259 °C

Rendement: 33%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.84(s, 3H, O-CH₃), 4,07 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 6.98-7.45(m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 59.12 (O-CH₃), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 117,1-135.33 (Ph).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)
(2(4-methoxyphenyl)methyl) diphosphonate (43)**



Formule brute: C₃₃H₄₃N₃O₁₀P₂

Masse moléculaire: 703 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **42** est obtenu lors de la préparation du composé **43** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide blanc

Point de fusion: 101-103 °C

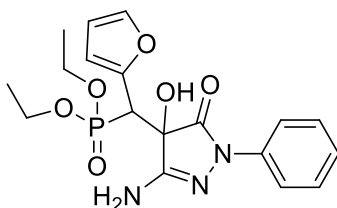
Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 6H, O-CH₃), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.70-7.65 (m, 15H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 58.52 (O-CH₃), 58.95 (O-CH₃), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.91-137.69 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

SM (IS):trouvé [M+H]⁺ 644,23.

**Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy -5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(furan-2-yl)methyl)phosphonate (44)**



Formule brute: C₁₈H₂₂N₃O₆P
Masse moléculaire: 407 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,22 ml (2,6 mmol ; 1,5 éq) de furfural, 0,37ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant une 5h15min. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **44** et **45**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune

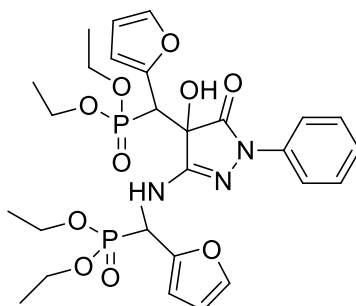
Point de fusion: 143-145 °C

Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 6.49-7.2(m, 3H, furan), 7.25-7.65(m, 5H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 81.20 (OH-C-P), 53.14 (CH), 50.82 (CH), 64.02 (O-CH₂), 65.6 (O-CH₂), 158,06 (-C=N), 169.10 (-C=O), 120-138.3 (Ph), 116-130.3 (furan), 137(C-N), 138.3 (furan).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)
(amino)(2(furan-2-yl)methyl) diphosphonate (45)**



Formule brute: C₂₇H₃₅N₃O₁₀P₂

Masse moléculaire: 623 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **45** est obtenu lors de la préparation du composé **44** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide marron

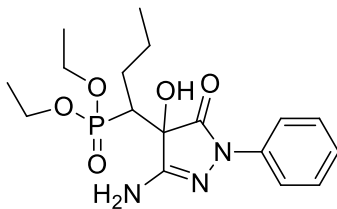
Point de fusion: 97-99°C

Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.94 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.33 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.45 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.69 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.80 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.95 (s, 1H, CH), 3.90 (s, 1H, CH), 4.17 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.37 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.42 (br, 1H, OH), 8.64 (s, 1H, NH₂), 6.35-7.17 (m, 6H, furan), 7.45-7.9 (m, 5H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 50.14 (CH), 53.17 (CH), 53.57 (CH), 55.11 (CH), 63.12 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 80.16 (OH-C-P), 80.20 (OH-C-P), 118.91-137.69 (Ph), 156.51 (-C=N), 168.17 (-C=O), 115-130.0 (furan), 136(C-N), 138 (furane).

Diéthyl (1-(3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)butyl)phosphonate(46)



Formule brute: C₁₇H₂₆N₃O₅P
Masse moléculaire: 383 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,15 ml (2,04 mmol ; 1,2 éq) de buturaldéhyde, 0,37ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline. Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 16 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **46** et **47**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige

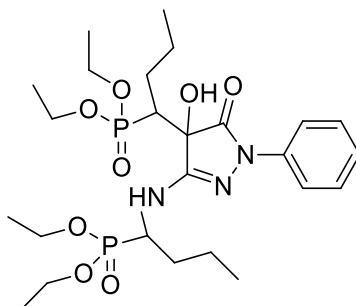
Point de fusion: 130-132 °C

Rendement: 76%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.89 (t, 3H, CH₂-CH₂-CH₃), 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.09 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 2.59 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.05-7.51(m, 5H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 12.82 (-CH₃), 32.92 (CH₂-CH₂), 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 119-137.23 (Ph).

**Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)
(aminobutyl)(butyl)methyl) diphosphonate (47)**



Formule brute: C₂₅H₄₃N₃O₈P₂
Masse moléculaire: 575 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **47** est obtenu lors de la formation du composé **46** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaunâtre

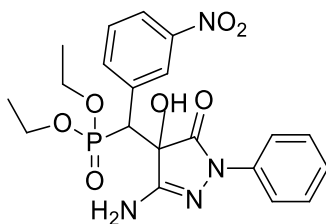
Point de fusion: 74-76°C

Rendement: 18%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.87 (t, 6H, CH₂-CH₂-CH₃), 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.07 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 2.56 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.78-7.70(m, 5H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 12.78 (-CH₃)₂, 32.85 ((CH₂-CH₂)₂), 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.91-137.69 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

**Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(3-nitrophenyl)methyl)phosphonate (48)**



Formule brute: C₂₀H₂₃N₄O₇P
Masse moléculaire: 462 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 258 mg (1,7 mmol ; 1éq) de 3-nitrobenzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 4 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **48** et **49**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide rouge marron.

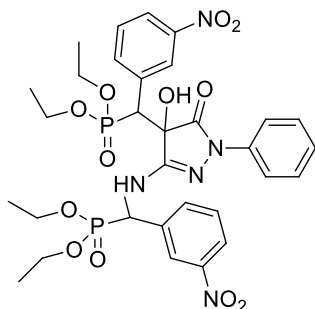
Point de fusion: 129-131 °C

Rendement: 20%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.98 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.42 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.75 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.89 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.96 (s, 1H, CH), 4.02 (s, 1H, CH), 4.34 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.46 (s, 1H, OH), 6.27 (s, 1H, NH₂), 7.10-7.56 (m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 79.3 (OH-C-P), 51.26 (CH), 49.83 (CH), 62.94 (O-CH₂), 63.65 (O-CH₂), 157,69 (-C=N), 167.73 (-C=O), 119,3-137.26 (Ph).

Diéthyl ((4-hydroxy 5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl) (amino) (2(3-nitrophenyl)methyl) diphosphonate (49)



Formule brute: C₃₁H₃₇N₅O₁₂P₂

Masse moléculaire: 733 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **49** est obtenu lors de la préparation du composé **48** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune beige

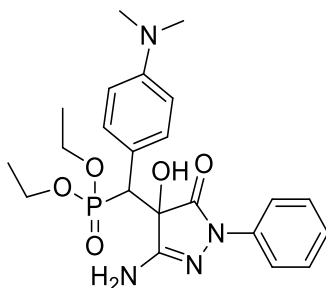
Point de fusion: 90-92°C

Rendement: 74%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.95 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.34 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.47 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.70 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.79 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.96 (s, 1H, CH), 3.99 (s, 1H, CH), 4.18 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.39 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.48 (br, 1H, OH), 8.63 (s, 1H, NH₂), 6.80-7.73 (m, 13H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.76 (CH), 51.18 (CH), 52.79 (CH), 54.34 (CH), 62.95 (O-CH₂), 63.29 (O-CH₂), 63.39 (O-CH₂), 63.85 (O-CH₂), 79.18 (OH-C-P), 79.24 (OH-C-P), 118.93-137.70 (Ph), 156,53 (-C=N), 168.18 (-C=O).

**Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)
(4-(dimethylamino)phenyl)methyl)phosphonate (50)**



Formule brute: C₂₂H₂₉N₄O₅P
Masse moléculaire: 460 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 255 mg (1,5 mmol ; 1 éq) de benzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous l'agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **50** et **51**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide rouge bordeaux

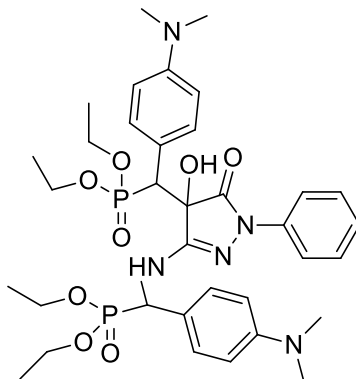
Point de fusion: 101-103 °C

Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.0 (t, 6H, N-(CH₃)₂), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.05-7.51 (m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 15,82 (-CH₃), 18,20 (N-CH₃), 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 119-137.23 (Ph).

Diéthyl ((4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl) (amino) (2(4-(diméthylamino)phényl))méthyl) diphosphonate (51)



Formule brute: C₃₅H₄₉N₅O₈P₂
Masse moléculaire: 729 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **51** est obtenu lors de la préparation du composé **50** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide marron jaune

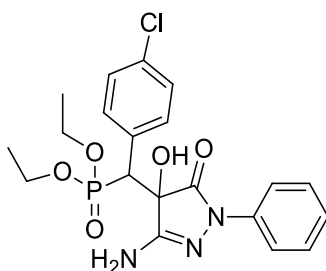
Point de fusion: 156-158 °C

Rendement: 35%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.78-7.70(m, 15H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 15,81(-CH₃), 18,5 (N-(CH₃)₂), 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.91-137.69 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diétyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(4-chlorophenyl)methyl)phosphonate (52)



Formule brute: C₂₀H₂₃ClN₃O₅P

Masse moléculaire: 451 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 364 mg (2,55 mmol ; 1,5 éq) de 4-Chlorobenzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 4 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **52** et **53**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige

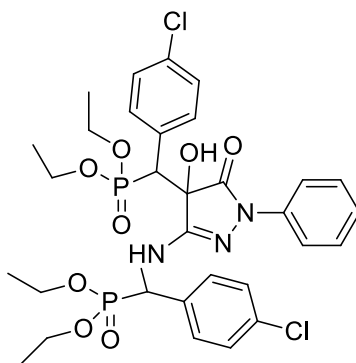
Point de fusion: 84-86°C

Rendement: 60%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.15-7.55 (m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 120-137.80 (Ph).

**Diétyl ((-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)
(2 (4-chlorophenyl))methyl) diphosphonate (53)**



Formule brute: C₃₁H₃₇Cl₂N₃O₈P₂

Masse moléculaire: 711 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **53** est obtenu lors de la préparation du composé **52** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune

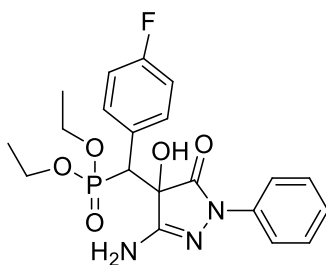
Point de fusion: 159-161 °C

Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.80-7.75(m, 13H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.94-137.76 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diéthyl (3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(4-fluorophenyl)(methyl)phosphonate (54)



Formule brute: C₂₀H₂₃FN₃O₅P
Masse moléculaire: 435 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,22 ml (2,04 mmol ; 1,2 éq) de 4-Fluorobenzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmoles, 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 18h. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **54** et **55**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige

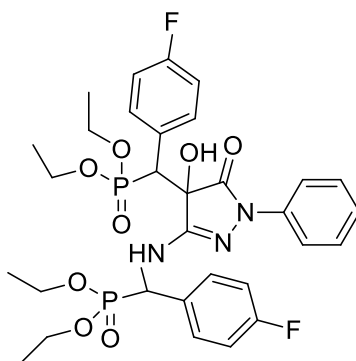
Point de fusion: 90-92 °C

Rendement: 40%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.12-7.49 (m, 9H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 117-136.35 (Ph).

Diétyl ((-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl) (amino)(2(4-fluorophenyl)methyl) diphosphonate (55)



Formule brute: C₃₁H₃₇F₂N₃O₈P₂

Masse moléculaire: 679 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **55** est obtenu lors de la préparation du composé **54** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide blanc

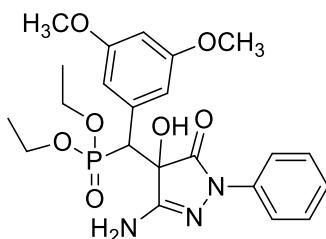
Point de fusion: 134-136 °C

Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.76-7.72(m, 13H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.89-137.66 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(3,5-dimethoxyphenyl)methyl)phosphonate (56)



Formule brute: C₂₂H₂₈N₃O₇P
Masse moléculaire: 477 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 284 mg (2,6 mmol ; 1,5 éq) de 3,5-methoxybenzaldehyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **56** et **57**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune

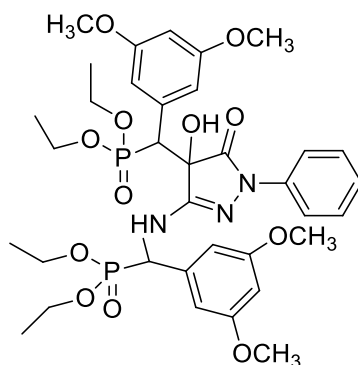
Point de fusion: 87-89°C

Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.65 (s, 6H, O-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.01-7.48 (m, 8H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 15.82 (CH₃), 15.88 (CH₃), 16.41 (CH₃), 16.47 (CH₃), 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 52.92 (O-CH₃), 53.22 (O-CH₃), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 118,32-137.15 (Ph).

Diétyl ((-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)(2(3,5-dimethoxyphenyl)methyl) diphosphonate (57)



Formule brute: C₃₅H₄₇N₃O₁₂P₂
Masse moléculaire: 763 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **57** est obtenu lors de la préparation du composé **56** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide maron jaunâtre

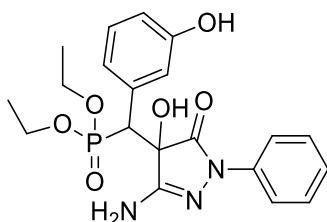
Point de fusion: 139-141 °C

Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.65 (s, 6H, O-CH₃), 3.68 (s, 6H, O-CH₃), 3.70 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.79-7.71 (m, 11H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 52.92 (O-CH₃), 53.22 (O-CH₃), 54.12 (O-CH₃), 54.20 (O-CH₃), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 118.89-137.67 (Ph), 156.51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(3-hydroxyphenyl)methyl)phosphonate (58)



Formule brute: C₂₀H₂₄N₃O₆P
Masse moléculaire: 433 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 210 mg (2,6 mmol ; 1,5 éq) de 3-hydroxybenzaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 2 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **58** et **59**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune

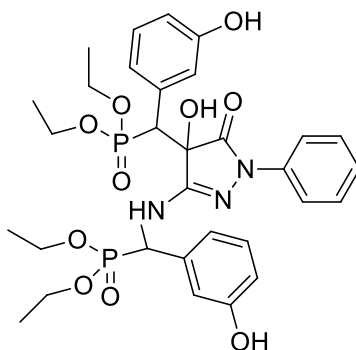
Point de fusion: 199-201 °C

Rendement: 50%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 5.30 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 6.95-7.81 (m, 10H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 119-137.23 (Ph).

**Diétyl ((-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)
(2(3-hydroxyphenyl)methyl) diphosphonate (59)**



Formule brute: C₃₁H₃₉N₃O₁₀P₂
Masse moléculaire: 675 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **59** est obtenu lors de la préparation du composé **58** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide orange

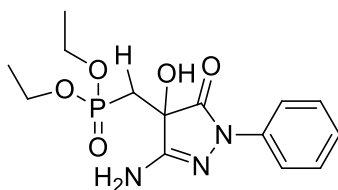
Point de fusion: 179-181 °C

Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 5.45 (br, 1H, OH), 5.49 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂), 6.78-7.70(m, 15H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 119.01-137.72 (Ph), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diéthyl ((3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)(methyl)phosphonate (60)



Formule brute: C₁₄H₂₀N₃O₅P
Masse moléculaire: 341 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

300 mg (1,7 mmol ; 1 éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,063 ml (2,5 mmol ; 1,5 éq) de formaldéhyde, 0,37 ml (2,13 mmol ; 1,5 éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 78,3 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 1h30.

Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **60** et **61**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide beige gris

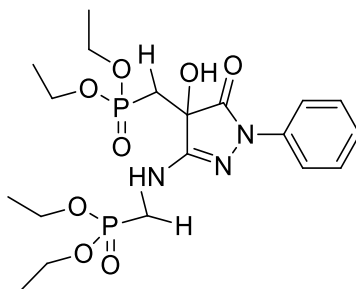
Point de fusion: 213-215 °C

Rendement: 40%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) :δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.29 (s, 1H, CH), 4.31 (s, 1H, CH), 4.34 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂), 7.05-7.51(m, 10H, Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) :δ (ppm) 79.25 (OH-C-P), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O).

**Diétyl ((4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)
(methyl) diphosphonate (61)**



Formule brute: C₁₉H₃₁N₃O₈P₂
Masse moléculaire: 491 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **61** est obtenu lors de la préparation du composé **60** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide blanc beige

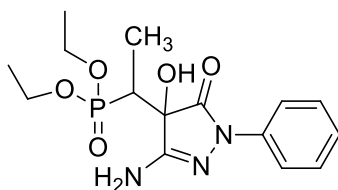
Point de fusion: 242-244 °C

Rendement: 45%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.08 (s, 1H, CH), 4.16 (s, 1H, CH), 4.20 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 49.74 (CH), 51.15 (CH), 52.77 (CH), 54.31 (CH), 55.80 (CH), 56.66 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.27 (O-CH₂), 63.36 (O-CH₂), 63.82 (O-CH₂), 79.16 (OH-C-P), 79.20 (OH-C-P), 156,51 (-C=N), 168.17 (-C=O).

Diéthyl (1-(3-amino-4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)ethyl) phosphonate (62)



Formule brute: C₁₅H₂₂N₃O₅P
Masse moléculaire: 355 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

200 mg (1,74 mmol ; 1éq) de 3-amino-1-phényl-2-pyrazoline-5-one **1** et 0,1 ml (2,5 mmol ; 1,5éq) de l'acétaldéhyde, 0,29 ml (2,13 mmol ; 1,5éq) de triéthylphosphite, sont dissous dans 5 ml d'éthanol, puis sous agitation est ajouté 52 mg (0,68 mmol ; 0,4 éq) de L-proline.

Le mélange est porté à reflux sous agitation pendant 4h30. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en utilisant un mélange (acétate d'éthyle / hexane) pour donner les composés **62** et **63**.

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide jaune

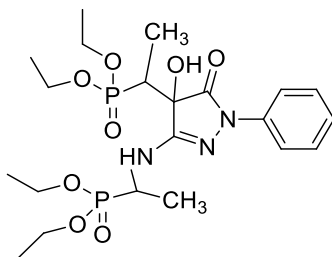
Point de fusion: 221-223 °C

Rendement: 40%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.96 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.06 (t, 3H, O-C(CH₃)-P), 1.4 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.62 (t, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.73 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.87 (q, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.94 (s, 1H, CH), 4.0 (s, 1H, CH), 4.32 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.40 (s, 1H, OH), 6.20 (s, 1H, NH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 79.28 (OH-C-P), 22,8 (OH-CCH₃-P), 15,83 (CH₃), 16,47 (CH₃), 51.24 (CH), 49.82 (CH), 62.92 (O-CH₂), 63.62 (O-CH₂), 157,66 (-C=N), 167.71 (-C=O), 119-137.23 (Ph).

**Diétyl (1,1-(4-hydroxy-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-4-yl)(amino)
(ethyl) diphosphonate (63)**



Formule brute: C₂₁H₃₅N₃O₈P₂
Masse moléculaire: 519 g.mol⁻¹

Mode opératoire :

Le composé **63** est obtenu lors de la préparation du composé **62** (Voir la procédure de préparation de ce dernier).

Eluant : (AcOEt/Hexane ; 40/60)

Aspect: solide blanc

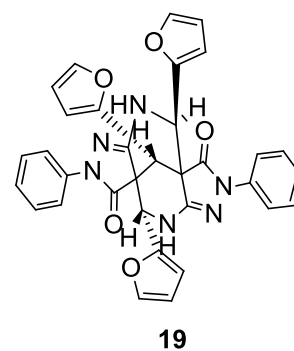
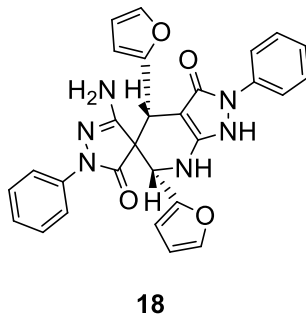
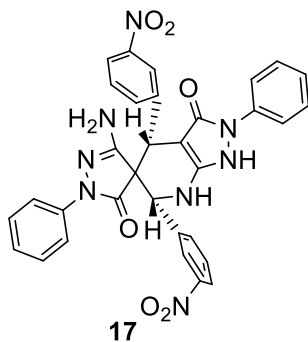
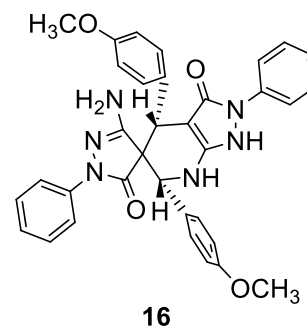
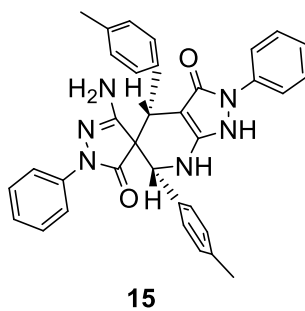
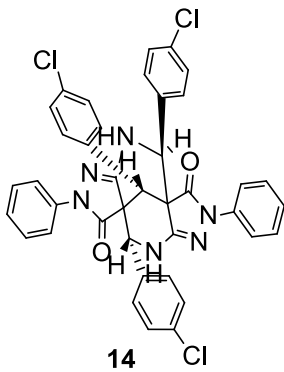
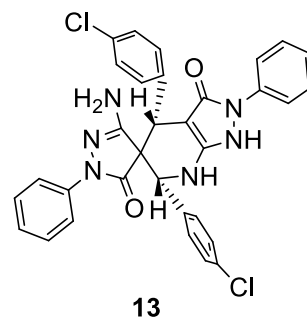
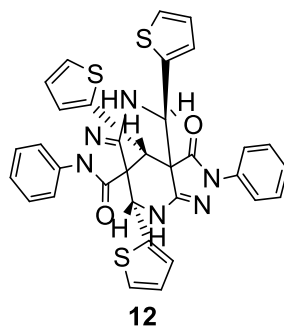
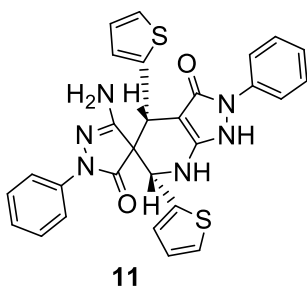
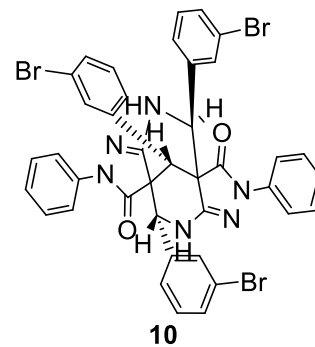
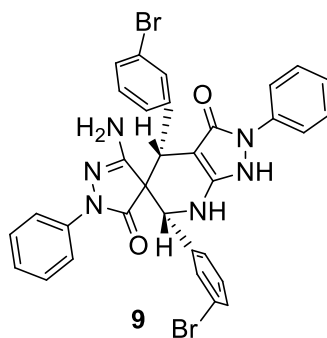
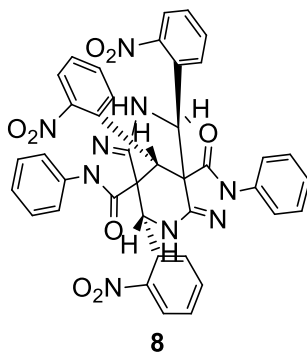
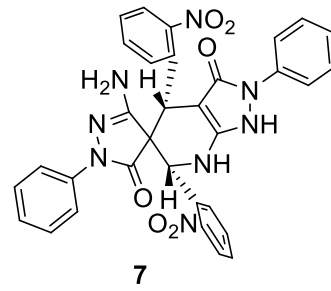
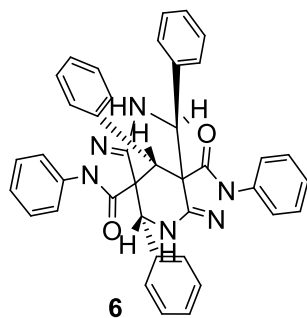
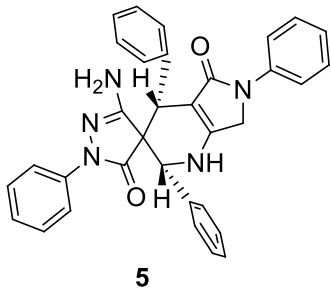
Point de fusion: 255-257 °C

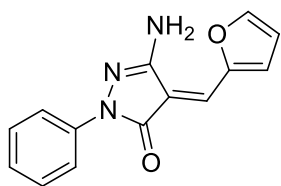
Rendement: 30%

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ (ppm) 0.92 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.06 (t, 3H, O-C(CH₃)-P), 1.20 (t, 3H, N-C(CH₃)-P), 1.30 (m, 6H, O-CH₂-CH₃), 1.43 (m, 3H, O-CH₂-CH₃), 3.67 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.78 (m, 1H, O-CH₂-CH₃), 3.93 (s, 1H, CH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.15 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.35 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 5.40 (br, 1H, OH), 8.60 (s, 1H, NH₂).

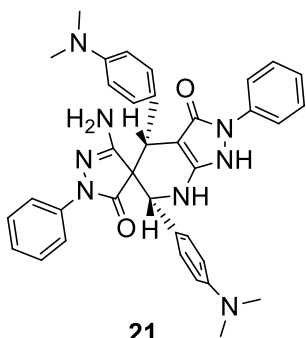
RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz) : δ (ppm) 22,8 (OH-CCH₃-P), 20,5 (NH-CCH₃-P), 15,83 (CH₃), 16,47 (CH₃), 49,74 (CH), 51,15 (CH), 52,77 (CH), 54,31 (CH), 62,92 (O-CH₂), 63,27 (O-CH₂), 63,36 (O-CH₂), 63,82 (O-CH₂), 79,16 (OH-C-P), 79,20 (OH-C-P), 156,51 (-C=N), 168,17 (-C=O).

LISTE DES PRODUITS SYNTHETISES

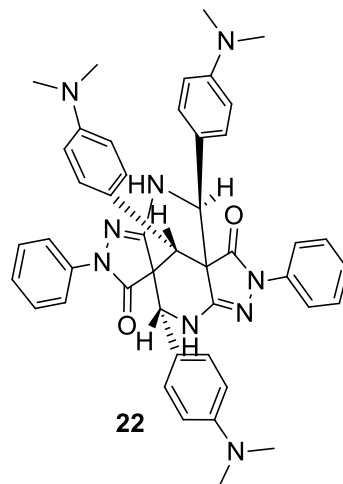




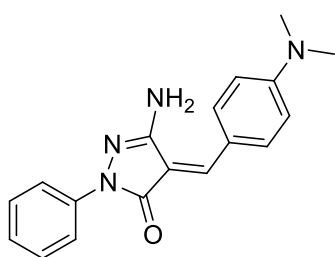
20



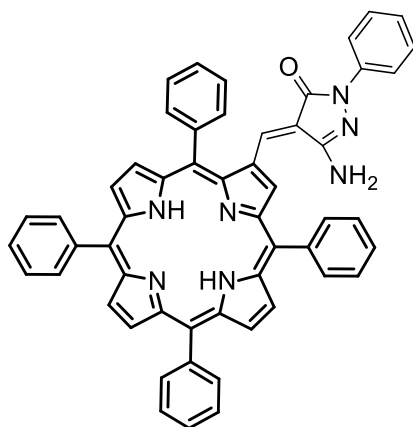
21



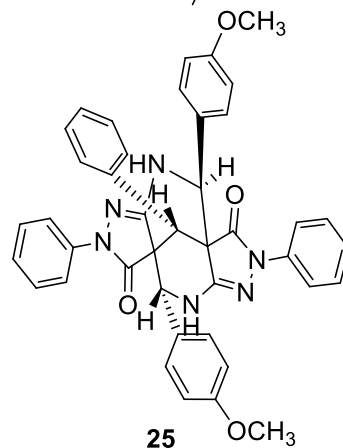
22



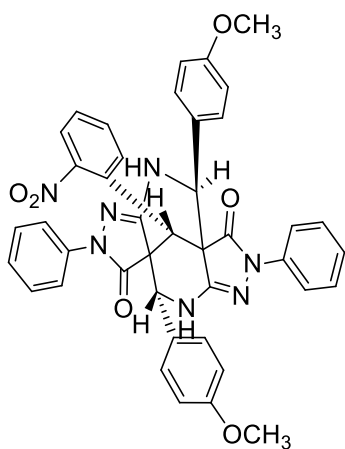
23



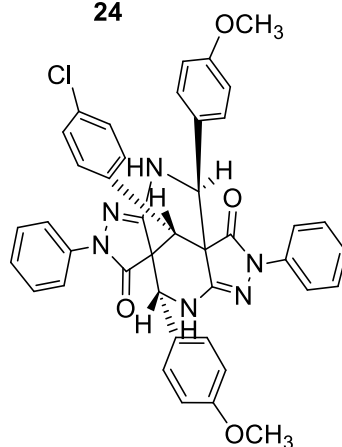
24



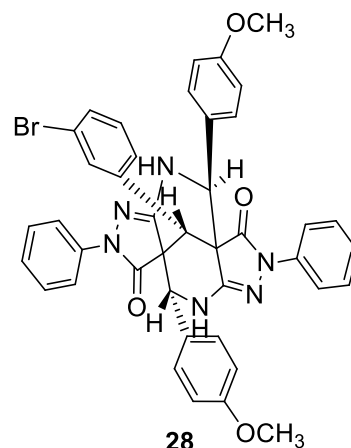
25



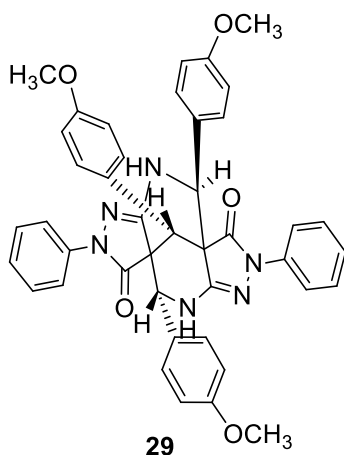
26



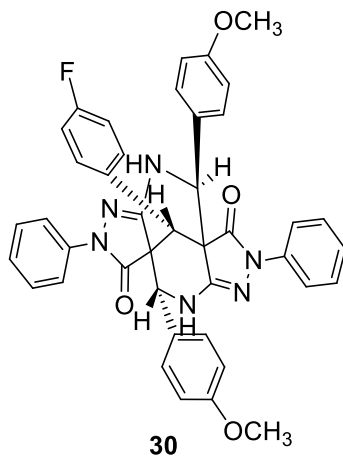
27



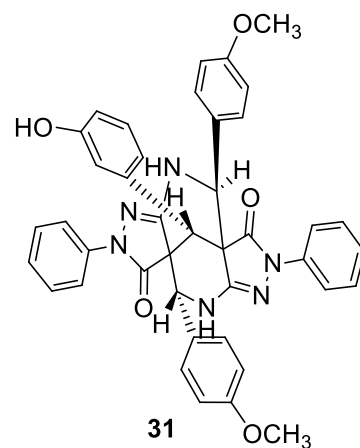
28



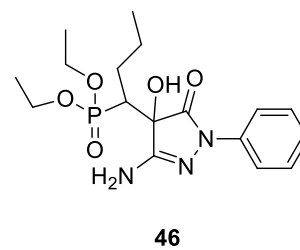
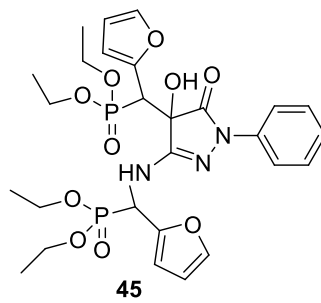
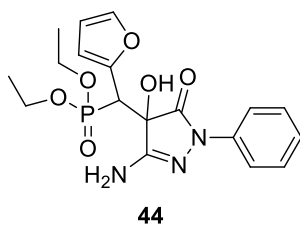
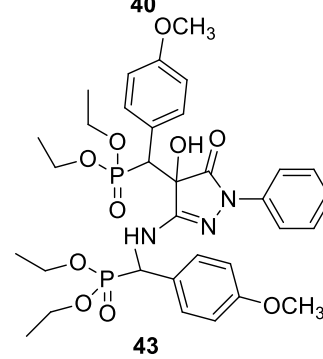
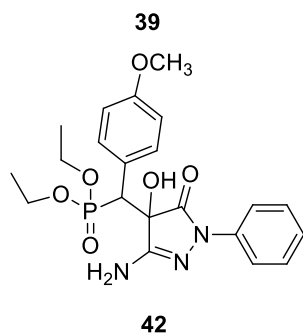
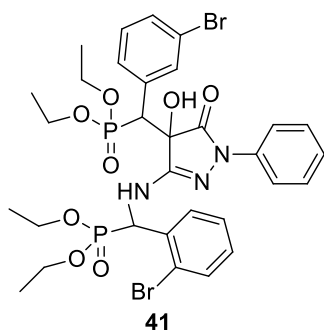
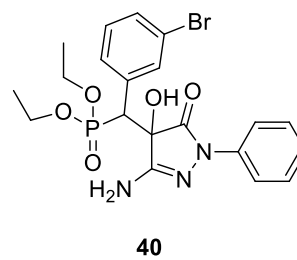
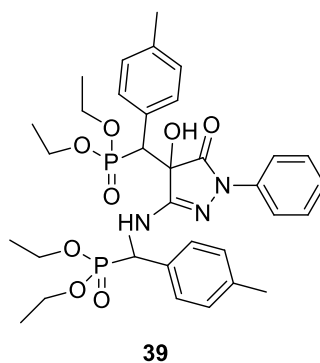
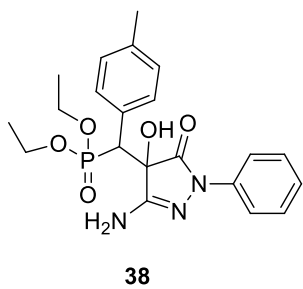
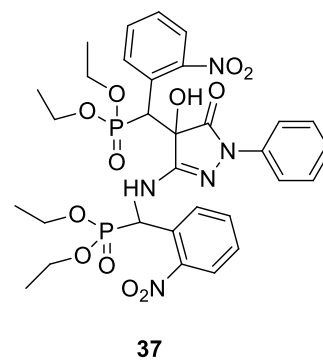
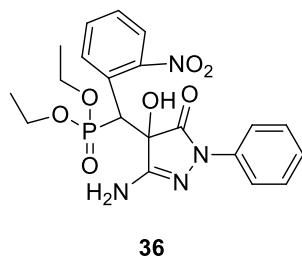
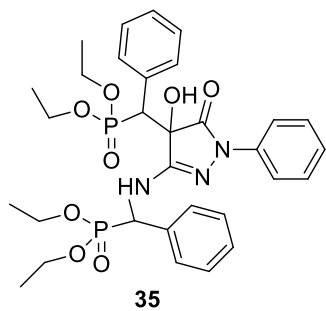
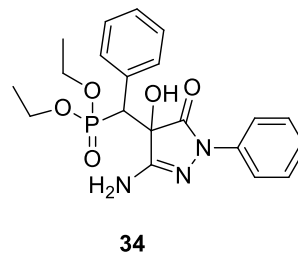
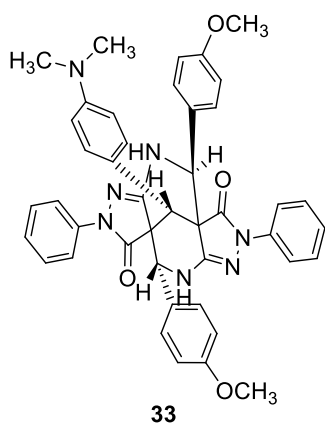
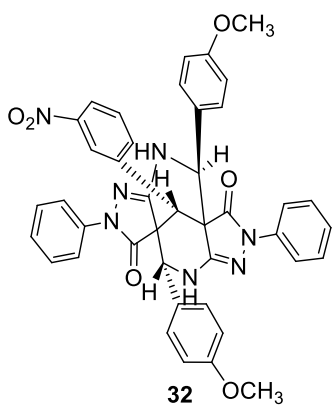
29

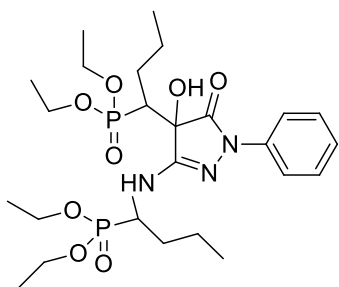


30

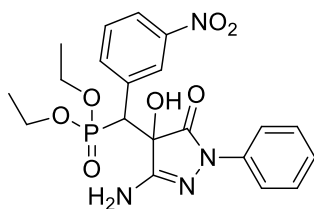


31

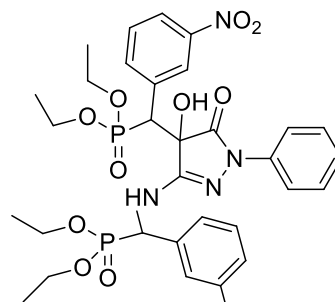




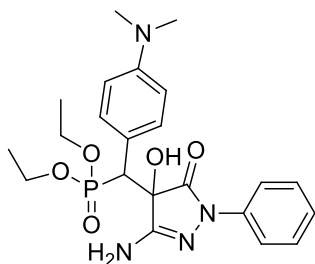
47



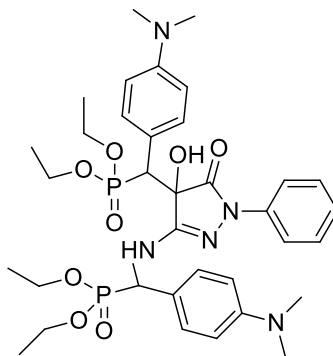
48



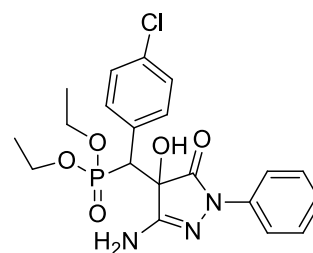
49



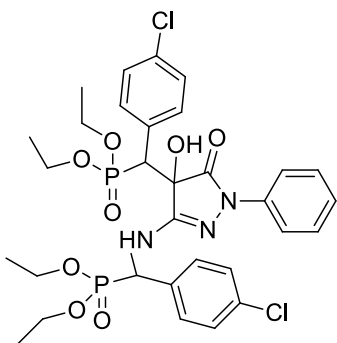
50



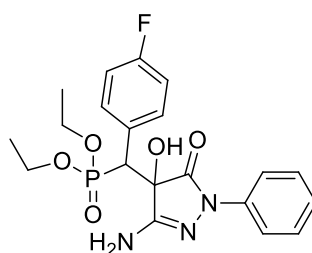
51



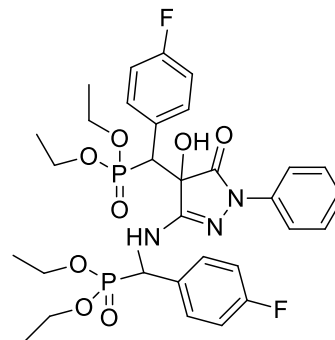
52



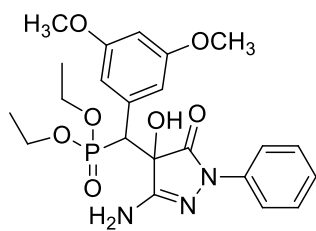
53



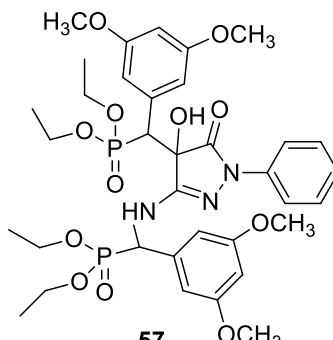
54



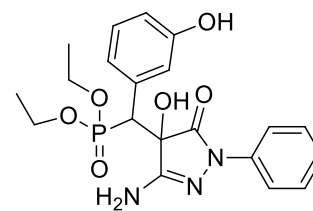
55



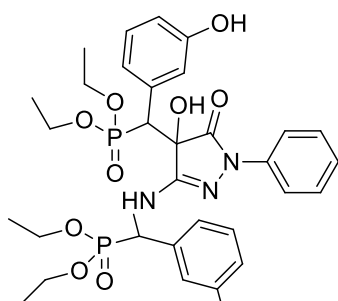
56



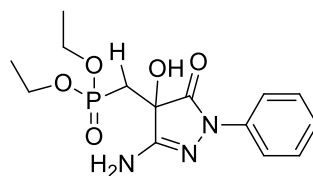
57



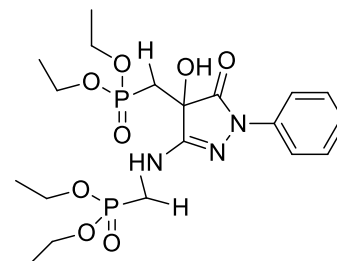
58



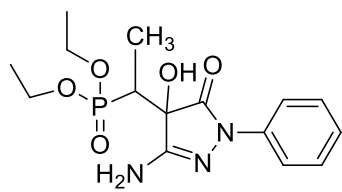
59



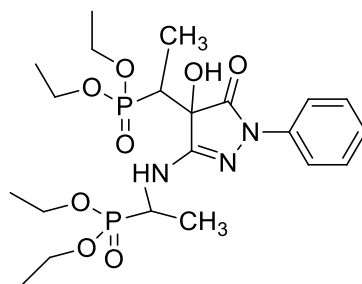
60



61



62



63

RESUME

Ce travail concerne la mise au point d'une méthode synthétique permettant d'accéder à différents dérivés spiropyrazolones et pyrazolophosphonates. Il est organisé en deux parties.

La première partie, concerne l'application d'un procédé en tandem de la réaction de Knoevenagel par condensation de l'aminopyrazolone et des aldéhydes pour accéder à de nouveaux composés spiropyrazoliques. Les activités antibactériennes de ces derniers, sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ont été évaluées. Les dérivés spiropyrazoliques élaborés ont été évalués pour une activité inhibitrice de *Quorum sensing*.

Une étude de criblage virtuel "screening *in silico*" des composés spiropyrazoliques synthétisés a été réalisée en utilisant l'outil d'exploration Molinspiration. Tous les composés spiropyrazoliques ont obéi à la règle des cinq paramètres de Lipinski et la majorité des spiropyrazoles ont montré une bioactivité modérée.

Les composés spiropyrazoliques préparés peuvent jouer un rôle important dans la neuroprotection dopaminergique. Ils ont été testés dans un modèle *in vitro* de mort cellulaire dopaminergique, en utilisant la lignée cellulaire de neuroblastome humain SH-SY5Y.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à la préparation de nouveaux composés pyrazolophosphonates selon la réaction tandem de Kabachnik-Fields / Pudovik.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de quelques composés pyrazolophosphonates préparés a été réalisée.

Mots-clés: Aminopyrazolone ; Réaction de Condensation ; Knoevenagel ; Spiropyrazolone ; *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Quorum sensing* ; Règle des cinq paramètres de Lipinski ; Neuroprotection ; neuroblastome humain SH-SY5Y ; Réaction multicomposants ; α -aminophosphonates ; α -hydroxyphosphonates ; Réaction Tandem de Kabachnik-Fields / Pudovik.

SUMMARY

This work concerns the development of a synthetic method allowing access to different spiropyrazolone and pyrazolophosphonate derivatives. It is organized in two parts.

The first part concerns the application of a tandem process of the Knoevenagel reaction by condensation of aminopyrazolone and aldehydes to access new spiropyrazole compounds. The antibacterial activities of these compounds, on the bacterial strains *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, were evaluated.

The elaborated spiropyrazole derivatives were evaluated for *Quorum Sensing* inhibitory activity.

A virtual screening "*screening in silico*" study of the synthesized spiropyrazole compounds was carried out using the Molinspiration exploration tool. All spiropyrazole compounds followed the rule of five parameters of Lipinski and the majority of spiropyrazoles showed moderate bioactivity.

The spiropyrazole compounds prepared can play an important role in dopaminergic neuroprotection. They were tested in an *in vitro* model of dopaminergic cell death, using the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y.

The second part of this work is devoted to the preparation of new pyrazolophosphonate compounds according to the tandem reaction of Kabachnik-Fields / Pudovik.

The evaluation of the antibacterial activity of some pyrazolophosphonate compounds prepared was carried out.

Keywords: Aminopyrazolone ; Réaction de condensation ; Knoevenagel ; Spiropyrazolone ; *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Quorum sensing* ; Rule of five parameters of Lipinski ; Neuroprotection ; Human neuroblastoma ; SH-SY5Y ; Multicomponents reaction ; α -aminophosphonates ; α -hydroxyphosphonates ; Tandem reaction of Kabachnik-Fields / Pudovik.