



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
BÉNI MELLAL



N° d'ordre : 62/2014

**Centre d'Etudes Doctorales** : Sciences et Techniques  
**Formation Doctorale** : Ressources Naturelles, Environnement et Santé

**THÈSE**

*Présentée par*

**HANAN SEKKAK**

*Pour obtenir le grade de*

**DOCTEUR**

**Spécialité** : Chimie Bio-organique

**Halogénure d'Hydrazonoyle  
Précurseur de Synthèse de Divers Systèmes  
Hétérocycliques**

Soutenue publiquement le 24 Novembre 2014, devant le Jury composé de :

<b>Pr. M. TAOURIRTE</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Marrakech</b>	<b>Président</b>
<b>Pr. Y. KANDRI RODI</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Fès</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. K. BOUGRIN</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences, Rabat</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. M. KHOULI</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. A. HAFID</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal</b>	<b>Examineur</b>
<b>Pr. A. M. ALAOUI</b>	<b>PH</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal</b>	<b>Co-directeur de thèse</b>
<b>Pr. E. M. RAKIB</b>	<b>PES</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal</b>	<b>Directeur de thèse</b>

## AVANT-PROPOS

Cette thèse a été effectuée au Laboratoire de Chimie Organique et Analytique de la Faculté des Sciences Techniques de Béni-Mellal sous la direction du Professeur El Mostapha RAKIB.

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

### A- Liste des publications :

- 1) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, M. Alaoui, A. Hafid, A. El Malki. Synthesis and *In Vitro* Cytotoxic Activity of Novel pyrazole-3,4-dicarboxylates. *International Journal of Organic Chemistry*, **2013**, 3, 37-41.
- 2) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, H. Zouihri. 6-methyl-2-phenyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one. *Acta Crystallographica Section E*, **2011**, E67, 1709.
- 3) **H. Sekkak**, S. Mojahidi, E. M. Rakib, S. Abouricha, A. Kerbal, M. Viale. Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Spirothiadiazolopyridazine Derivatives. *Letters in Drug Design & Discovery*, **2010**, Vol. 7, N° 10, 743-746.

### B- Liste des communications

- 1) E. M. Rakib, **H. Sekkak**, S. Mojahidi, S. Abouricha, A. Alaoui, N. Benchat, V. Maurizio. Synthesis and Biological Activity of Some New Pyridazine Derivatives. **Communication-Poster**. 7<sup>ème</sup> Rencontre Nationale sur la Chimie Hétérocyclique, 12-13 Mars **2009**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.
- 2) S. Mojahidi, E. M. Rakib, **H. Sekkak**, M. A. Alaoui, S. Abouricha, N. Benchat. Synthesis and *in Vitro* Cytotoxic Evaluation of Novel Pyridazin-4-one Derivatives. **Communication-Poster**. 4<sup>ème</sup> Rencontre Internationale de Chimie et Développement, Université Cadi ayyad, Marrakech, Maroc, 24-27 Novembre **2010**.
- 3) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, S. Mojahidi, S. Abouricha, A. Kerbal, C. Aiello, M. Viale. Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Spirothiadiazolopyridazine Derivatives. **Communication-Poster**. 4<sup>ème</sup> Rencontre Internationale de Chimie et Développement, Université Cadi ayyad, Marrakech, Maroc, 24-27 Novembre **2010**.
- 4) **H. Sekkak**, S. Mojahidi, E. M. Rakib, , H. Ait Mousse, A. Ziad, C. Aiello, M. Viale. Synthesis and Antiproliferative Evaluation of New Pyridazine Derivatives. **Communication-Poster**. Congrès International de Cancérologie, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, 6-7 Mai **2011**

5) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, M. Alaoui. Synthesis and reactivity of a novel aminopyrazoles derived from nitrile imines. **Communication-Poster**. Symposium International sur la Chimie Hétérocyclique, 26-29 Octobre **2011**, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, Maroc.

6) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, S. Mojahidi, A. El Malki, S. Abouricha, C. Aiello, M. Viale. Synthesis of New Spirothiadiazolopyridazines and Evaluation of Their Anticancer Activities. **Communication-Poster**. 1<sup>ère</sup> Edition Internationale de Chimie Médicinale au Maroc, **24-25** Mai **2012**, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, Maroc.

7) **H. Sekkak**, E. M. Rakib, M. Alaoui, A. Hafid, A. El Malki. Synthesis and *in vitro* cytotoxic activity of novel pyrazole-3,4-dicarboxylates. **Communication-Poster**. Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (TRAMECH), **27-30** Novembre **2013**, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc.

*Je dédie ce travail à :*

*Mes parents*

*Mes sœurs et frères*

*Mon mari*

*Mon fils et ma fille*

*Mes amis*

*Et à tous ceux qui me sont chers*

*Pour leur présence dans tous les instants*

*Pour le soutien qu'ils m'ont apporté.*

## Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Organique et Analytique, à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal, Université Sultan Moulay Slimane sous la direction de Monsieur le Professeur **E.M. RAKIB** dans le cadre d'une thèse de Doctorat.

Tout d'abord, j'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur le Professeur **E.M. RAKIB** pour m'avoir accueillie dans son équipe de recherche, pour la chance qu'il m'a donnée d'acquérir une formation de chercheur dans de bonnes conditions, pour son soutien et les nombreux conseils judicieux qu'il a su me prodiguer tout au long de ce travail. Merci pour votre aides, votre compréhension, et pour la confiance que vous m'avaient témoigné tout au long de cette étude. Malgré vos importantes obligations, vous avaient toujours été présent pour recadrer mes recherches dans la bonne direction et ceci été fondamental dans la bonne réalisation de cette thèse. Soyez assurées de ma profonde gratitude.

Ma reconnaissance va également au Professeur **A. MEDAGHRI-ALAOU**, Co-encadrant de cette thèse, pour les aides, les discussions et les précieux conseils dont il m'à constamment fait part.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur **B.MERNARI**, Président de l'Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal pour le soutien financier de notre laboratoire de recherche et à Monsieur **A.ZEGHAL** Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal pour le bon déroulement de la procédure administrative et l'aide logistique.

Je tiens à remercier plus sincèrement le président du jury Monsieur **M. TAOURIRTE** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Je suis très reconnaissant à l'honneur que me fait **Monsieur Y. KANDRI RODI** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, en acceptant d'être rapporteur et de faire partie du jury de cette thèse.

Mes remerciements s'adressent également à **Monsieur K. BOUGRIN** Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat en tant que rapporteur de cette thèse et pour sa présence parmi les membres du jury, afin de juger le contenu de ce travail.

Je tiens à remercier **Monsieur M. KHOUILI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal pour avoir bien voulu juger cette thèse en tant que rapporteur et membre de jury. Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je remercie très vivement **Monsieur A. HAFID**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail de thèse et de participer au jury.

J'adresse mes remerciements au professeur **A.EL HARTI** Directeur du Centre des Etudes Doctorales à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, pour sa collaboration au bon déroulement de la procédure administrative à fin de soutenir ma thèse.

Je remercie le professeur **Monsieur A. HANNIOUI** et tous les professeurs du département de la chimie à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal.

J'adresse également mon remerciement à **M<sup>lle</sup> L. BOUISSANE** professeur à la Faculté Polydisciplinaire de Béni-Mellal pour son implication à la correction de ce manuscrit.

Mes remerciements vont également au personnel du service RMN, Spectrométrie de Masse et DRX-Monocristal de la division UATRS du centre National de la recherche Scientifique et Technologique **CNRST**, **Rabat**. Je remercie également tout le personnel du service RMN du centre **CURI**, **Fès**.

Je suis particulièrement reconnaissante à Monsieur **M. Viale**, professeur à l'Institut National de Cancérologie et d'Immunologie à Genova en Italie et Monsieur **A. ZYAD** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal pour la réalisation des tests biologiques.

Bien que la thèse soit fondamentalement un travail individuel, elle n'aurait pu être menée à bien sans une équipe de collègues qui contribuent au bon fonctionnement du laboratoire, avec les quels il est possible d'échanger conseils et suggestions. Je remercie pour cela tous mes collègues de laboratoire de Chimie Organique notamment: N. ABBASSI, S. MOUJAHIDI, H. CHICHA, S. ABOURICHA et B. OULEMDA.

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

## Liste des abréviations

<b>A</b>	Ar	: Aromatique
<b>B</b>	BOC	: Tert-butylcarbonyle
<b>C</b>	CCM	: Chromatographie sur couche mince
	CDCl <sub>3</sub>	: Chloroforme deutérié
	COX-2	: Cyclo Oxygénase-2
<b>D</b>	DEPT	: Distortionless Enhancement of Polarization Transfer
	δ	: Déplacement chimique
	DMF	: Diméthylformamide
	DMSO	: Diméthylsulfoxyde
	DMSO-d <sub>6</sub>	: Diméthylsulfoxyde deutérié
	d	: Doublet
	dd	: Doublet de doublet
<b>E</b>	Et	: Ethyle
<b>G</b>	g	: Gramme
<b>H</b>	h	: Heure
<b>I</b>	IR	: Infra-rouge
	IC <sub>50</sub>	: Concentration inhibitrice de 50 % de la prolifération
<b>M</b>	Me	: Méthyle
	MS	: Spectroscopie de masse
	m	: Multiplet
	mg	: Milligramme
	min	: Minute
	mmol	: Millimole
	MM	: Masse molaire
<b>P</b>	PF	: Point de fusion
	Ph	: Phényle
	ppm	: Partie par million
<b>Q</b>	q	: quadruplet
<b>R</b>	Rdt	: Rendement
	Rx	: Rayons X



	RMN	: Résonance magnétique nucléaire
<b>S</b>	s	: Singulet
<b>T</b>	T. a.	: Température ambiante
	<i>t</i> -BuOK	: Tertiobutylate de potassium
	TMS	: Tétraméthylsilane
	t	: triplet
<b>U</b>	UV	: Ultraviolet

# TABLE DES MATIERES

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : Synthèse de divers systèmes hétérocycliques à partir des halogénures d'hydrazonoyle .....</b>	<b>5</b>
<b>I- Réactions des hétérocycles avec les halogénures hydrazonoyle.....</b>	<b>6</b>
I-1 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de l'imidazole .....	6
I-2 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de la pyrazole .....	11
I-3 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de la triazole.....	14
I-4 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de la Pyrimidine .....	16
I-5 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de 1,2,4-Triazine .....	19
I-6 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec des hétérocycles condensés.....	20
I-7 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec des hétérocycles thioxo : synthèse des spirohétérocycles.....	29
<b>CHAPITRE II :Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2H)-one et de son homologue pyridazinethione avec les N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines.....</b>	<b>33</b>
<b>I- Mise au point sur la synthèse, la réactivité et l'activité biologique de la pyridazinone .</b>	<b>34</b>
<b>II- Synthèse des pyridazinones et pyridazinethiones .....</b>	<b>46</b>
II-1 Synthèse de pyridazin-3(2H)-one .....	46
II-2 Synthèse de la pyridazin-3(2H)-thione .....	48
<b>III- Synthèse des N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines .....</b>	<b>48</b>
<b>IV- Préparation de l'oxyde de mésitronitrile : .....</b>	<b>51</b>
<b>V-Cycloaddition dipolaire-1,3 des pyridazinones et pyridazinthiones.....</b>	<b>52</b>
V-1- Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2H)-one .....	52
V-2- Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2H)-thione.....	55
<b>VI- Tests pharmacologiques.....</b>	<b>62</b>
VI-1- Méthodes et Matériels :.....	62
VI-1-1- Dilution de composés biologiques pour le dosage .....	62

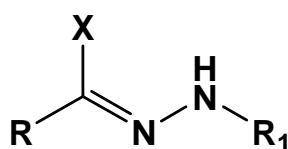
VI-1-2- Test de cytotoxicité .....	62
VI-2- Résultats et discussions .....	63
<b>VII- Conclusion .....</b>	<b>64</b>
<b>VIII- Partie expérimentale .....</b>	<b>65</b>
<b>CHAPITRE III: Réaction de cyanoacétate d'éthyle et N-aryl C-éthoxycarbonyl nitrilimines: Synthèse de nouveaux dérivés de la pyrazole .....</b>	<b>78</b>
<b>I- Etude bibliographique sur la synthèse des pyrazoles utilisant les nitrilimines .....</b>	<b>79</b>
<b>II- Réaction du cyanoacétate d'éthyle avec N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines.....</b>	<b>92</b>
II-1- Synthèse des éthyldiazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates .....	92
II-2- Réaction de cycloaddition [2+3] du cyanoacétate d'éthyle avec les nitrilimines.....	93
<b>III- Réaction des dérivés de l'aminopyrazole avec l'hydrazine .....</b>	<b>100</b>
<b>IV- Evaluation biologiques des diéthyl 5-amino-1-(aryl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates .....</b>	<b>103</b>
IV-1- Matériels et méthodes .....	103
IV-2- Résultats des tests de cytotoxicité.....	103
<b>V- Conclusion.....</b>	<b>105</b>
<b>VI- Partie expérimentale .....</b>	<b>106</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>113</b>
<b>ANNEXE : PUBLICATIONS .....</b>	<b>116</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>134</b>

# **Introduction générale**

Les composés hétérocycliques représentent la majorité des molécules utilisées dans l'industrie pharmaceutique et font l'objet d'une recherche très active dans le monde. Leur rôle dans les processus biologiques est de première importance et ils sont aussi les structures de base d'une grande variété de médicaments. Les travaux de recherche de la chimie hétérocyclique publiés dans des revues internationales tels que les journaux bio-organiques, biophysiques, pharmaceutiques, médicaux et autres constituent la majorité de la littérature de chimie organique.

Notre sujet de recherche se place dans ce contexte et centré sur le développement de la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à partir de l'étude de la réactivité des halogénures d'hydrazonoyle.

Les halogénures d'hydrazonoyle (figure I) sont largement utilisés pour la synthèse d'hétérocycles. Ils sont bien connus pour trois types de réactions: cycloaddition dipolaire 1,3 conduisant à des hétérocycles à cinq chaînons, des réactions de cyclocondensation menant à des hétérocycles à cinq chaînons, six, ou plus et les réactions d'addition nucléophile conduisant à des adduits acycliques. Les halogénures d'hydrazonoyle les plus couramment utilisés sont des nitrilimines en raison de leur stabilité et de leur accessibilité facile à partir de différents précurseurs. Outre l'intérêt synthétique, les halogénures d'hydrazonoyle sont des intermédiaires clés dans la synthèse de nombreuses molécules hétérocycliques à caractère pharmacologique potentielle.



**Figure I** : Halogénure d'hydrazonoyle

C'est dans cet objectif que nous nous sommes intéressés à développer dans ce travail de thèse la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à caractère pharmacologique potentiel via le précurseur de l'halogénure d'hydrazonoyle.

Ce mémoire sera divisé en trois chapitres.

Dans le premier chapitre nous décrirons une étude bibliographique détaillée sur la synthèse de divers systèmes hétérocycliques à partir des halogénures d'hydrazonoyle.

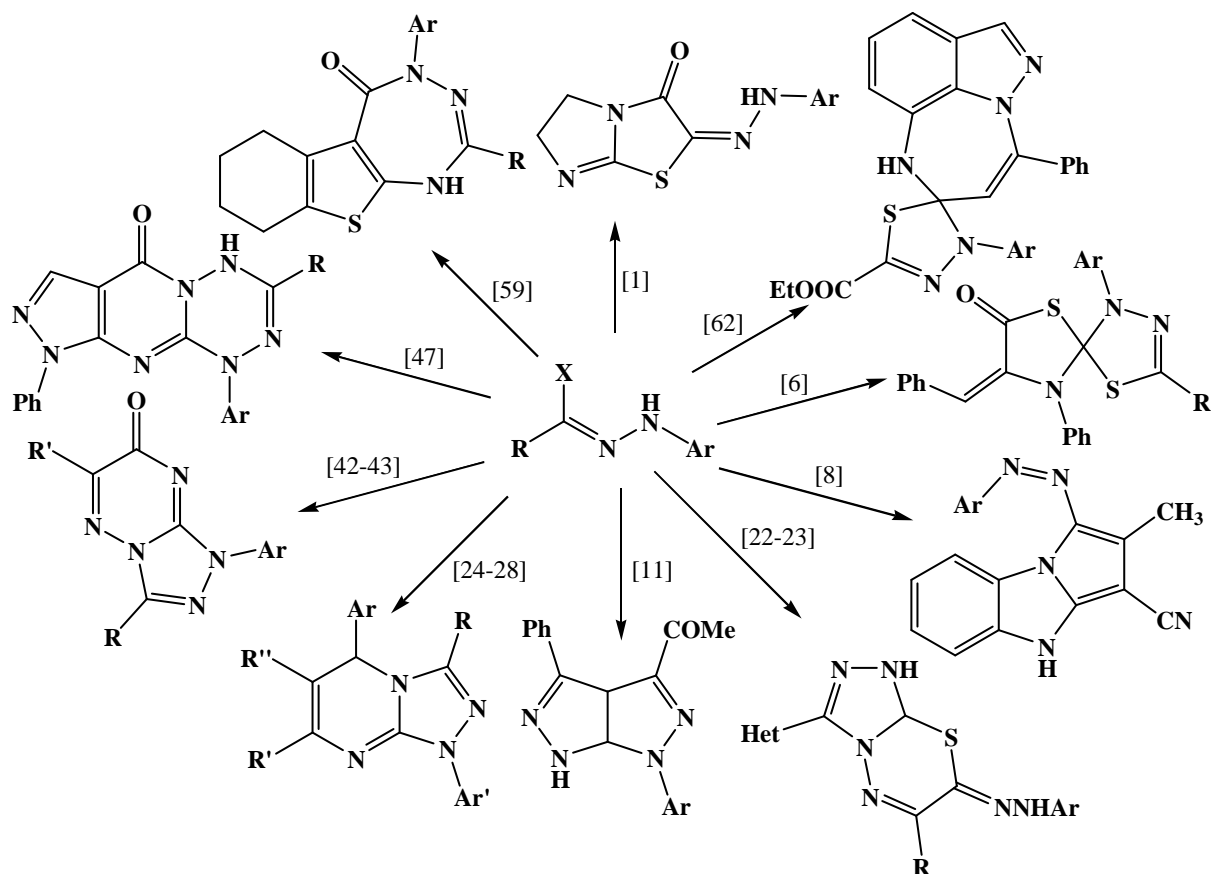


Schéma 1

Dans le deuxième chapitre nous rapporterons la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des dérivés de la pyridazinone avec les halogénures d'hydrazonoyle permettant la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type triazolopyridazinones et spirothia diazolopyridazines. Nous exposerons les résultats pharmacologiques des molécules synthétisées.

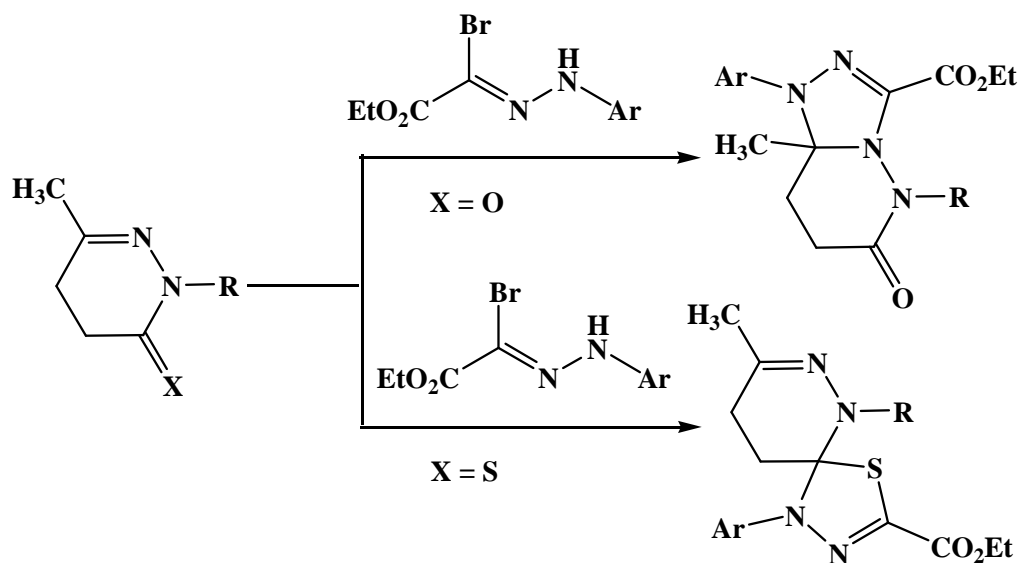


Schéma 2

Le troisième chapitre fera l'objet de la réaction de condensation des halogénures d'hydrazonoyle avec le cyanoacétate d'éthyle. Cette stratégie ouvre l'accès à l'obtention de nouveaux dérivés pyrazoliques à caractère pharmacologique potentielle. La dernière partie de ce chapitre traitera la réactivité et l'évaluation pharmacologique des aminopyrazoles tri substitués.

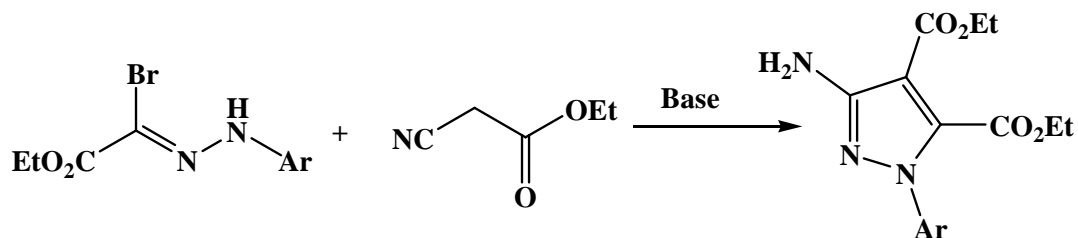


Schéma 3

---

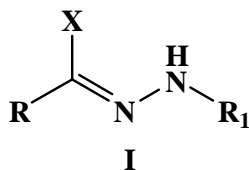
[1], [6], [8], [11], [22-23], [24-28], [42-44], [47], [59], [62] : Voir les références du Chapitre I

## **CHAPITRE I :**

**Synthèse de divers systèmes hétérocycliques à partir des halogénures d'hydrazonoyle**



Les Halogénures d'hydrazonoyle **I** constituent une classe de composés de formule générale **I** dans laquelle X représente un atome de chlore ou de brome.



Depuis les années 1970 plusieurs travaux de recherche ont été publiés concernant leurs réactions et leurs activités biologiques. Ce précurseur est très important pour les chimistes et les biologistes dans la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques biologiquement actifs. L'objectif de la présente étude est de présenter les résultats bibliographiques de la recherche sur les réactions des halogénures d'hydrazonoyle rapportés par différents groupes de recherches depuis 1991 jusqu'à présent.

## I- Réactions des hétérocycles avec les halogénures hydrazonoyle

### I-1 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de l'imidazole

La réaction des halogénures *N*-aryl 2-oxo-alkanehydrazonoyle avec l'imidazoline-2(1H)-thione **1** dans l'éthanol en présence de triéthylamine a donné lieu aux dérivés de l'arylazo-imidazo[2,1-b]thiazole **2** via l'intermédiaire de la thiohydrazonate (schéma 1) [1]. Cependant, la réaction de **1** avec l'éthyle (*N*-arylhydrazono) chloroacétate a conduit au dérivé hydrazone **3**.

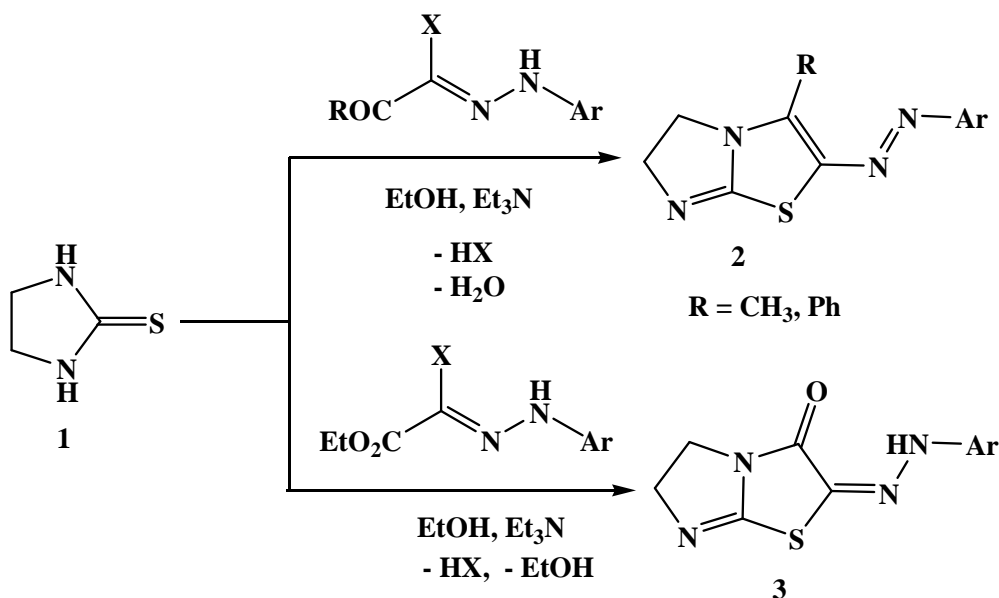


Schéma 1

[1]. A. O. Abdelhamid, F. A. Attaby. *J. Heterocycl. Chem.* **1991**, 28, 41.

Le traitement de la 4,5-diphényl-imidazoline-2(3H)-thione **4** avec des halogénures d'hydrazonoyles n'ayant pas de groupe  $\alpha$ -oxo, dans le chloroforme en présence de la triéthylamine a conduit exclusivement aux dérivés de l'imidazo[2,1-c][1,2,4]triazole **5** [2] (schéma 2).

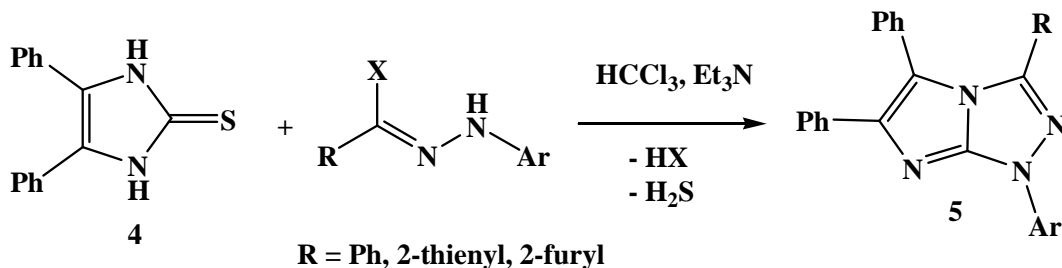


Schéma 2

Les dérivés de l'imidazo[2,1-c][1,2,4]triazole [3] sont obtenus aussi à partir de la réaction de la 4-arylhydrazono-2-méthylthio-imidazolin-5(1H)-one **6** avec différents halogénures d'hydrazonoyles dans l'éthanol à température ambiante en présence de l'éthanoate de sodium (schéma 3).

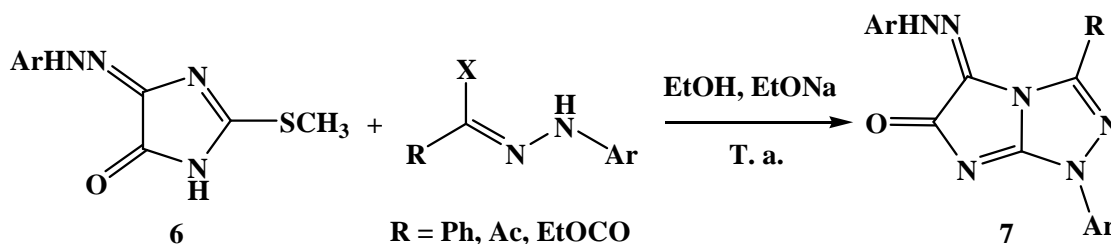


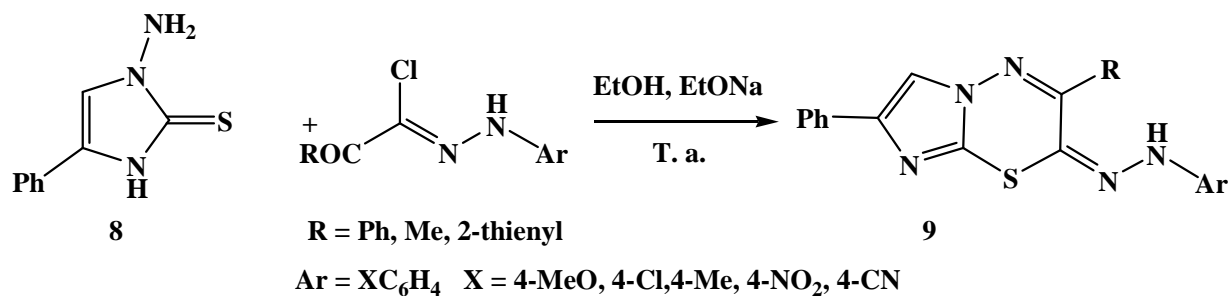
Schéma 3

En 2007, l'équipe de recherche de Shawali [4] a étudié aussi la réaction des chlorures de *N*-aryl-2-oxohydrazonoyles avec le 1-amino-4-phénylimidazoline-2-thione **8** dans l'éthanol en présence de l'éthanoate de sodium à température ambiante. Cette réaction a donné lieu aux 2-arylazo-4*H*-imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazines **9** avec de bons rendements (schéma 4). Ce résultat montre que les thiohydrazonates initialement formés in situ subissent une cyclisation déshydratante dès qu'ils sont formés pour donner les produits finaux **9**.

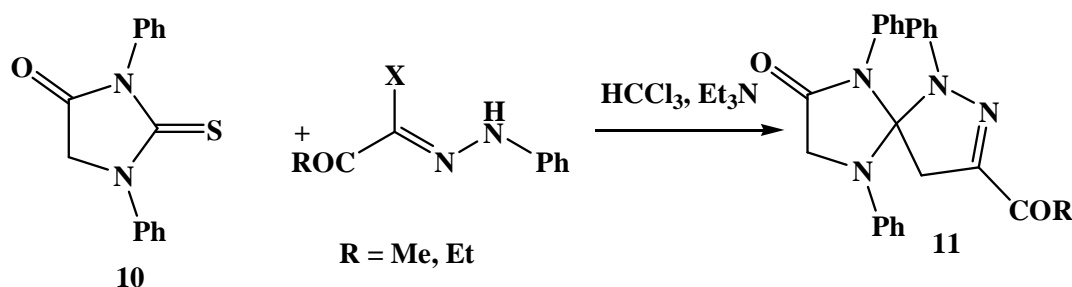
[2]. A. S. Shawali, M. A. N. Mosselhi. *J. Sulfur Chem.* **2005**, 26, 267

[3]. A. S. Shawali, M. A. Abdallah, M. A. N. Mosselhi, M. S. Elewa. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, 44, 285.

[4]. A. S. Shawali, M. A. N. Mosselhi, T. A. Farghaly. *J. Chem. Res.* **2007**, 479.



La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des halogénures de 2-oxoalcanehydrazonoyle avec le 4-oxo-1,3-diphénylimidazole-2-thione **10** dans le chloroforme en présence de triéthylamine a conduit aux spiro[2,2'-imidazole-3H-1,3,4-thiadiazoles] **11** avec des rendements allant de 75 à 77% (Schéma 5) [5]. Ce résultat montre que le site dipolarophile thioxo C=S est plus réactif que celui du groupe C=O. La réaction est régiosélective.



Un résultat analogue [5] a été observé aussi lors de la réaction de condensation de 5-phénylméthylène-1,3-diphényl-5-oxo-2-thioxo-tétrahydroimidazole **12** avec les halogénures d'hydrazonoyle dans le chloroforme en présence de la triéthylamine. Les spiro[5H-pyrazolo-4,4'-imidazoles] **13** sont obtenus avec de bons rendements (78-80%) (Schéma 6). Dans ce cas, la double liaison exocyclique C=C est plus réactive que la double liaison thioxo C=S, la réaction est régiosélective.

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

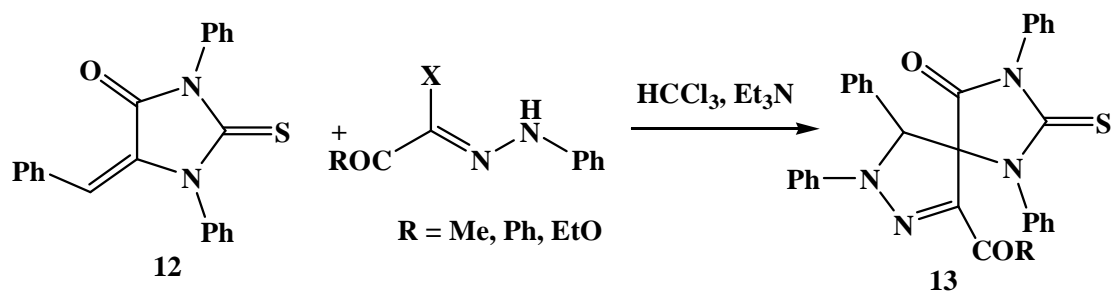


Schéma 6

Par ailleurs, les dérivés spiro[3H-thiazole-2,2'-3H-thiadiazoles] **15** ont été formés par réaction de la 3-phényl-4-2-phénylméthylène-thioxothiazolin-5-one **14** avec les nitrilimines, générés in situ par l'action de la triéthylamine sur les halogénures d'hydrazonoyle à reflux du chloroforme (Schéma 7) [6]. Dans ce cas, la double liaison C=S semble être un site dipôlarophile plus réactif que la double liaison C=C.

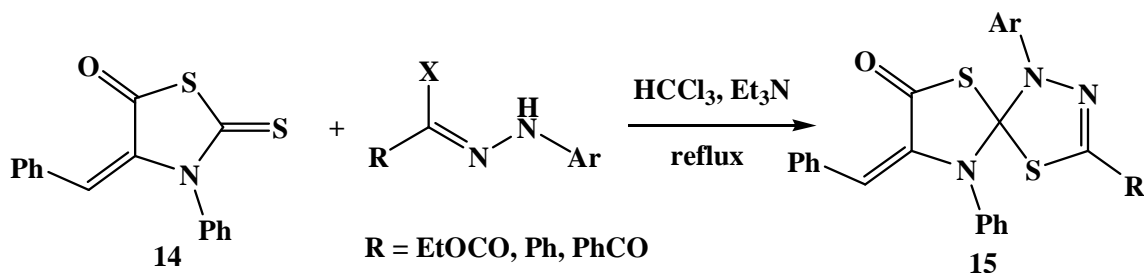
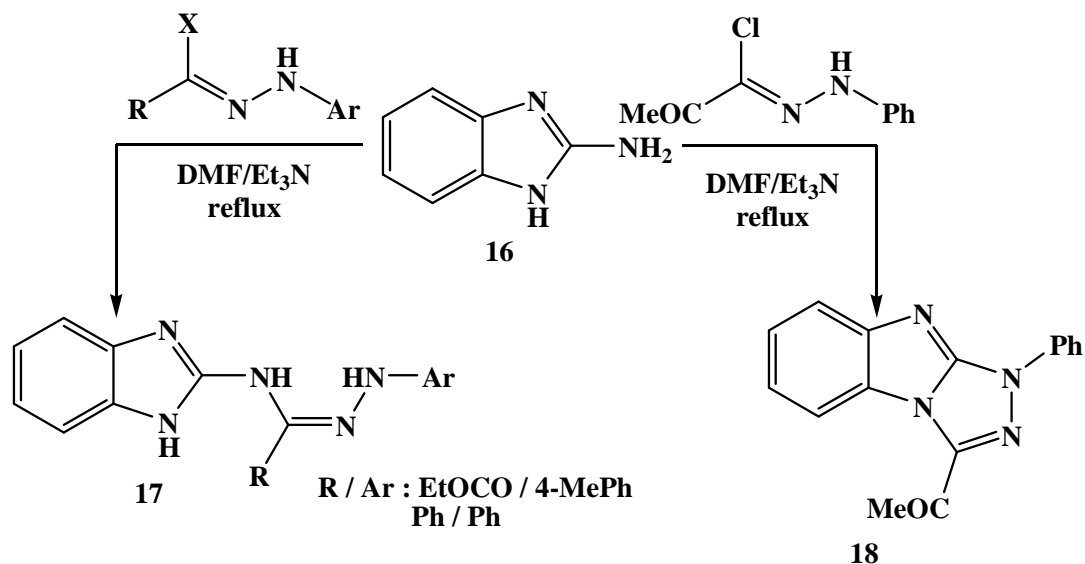


Schéma 7

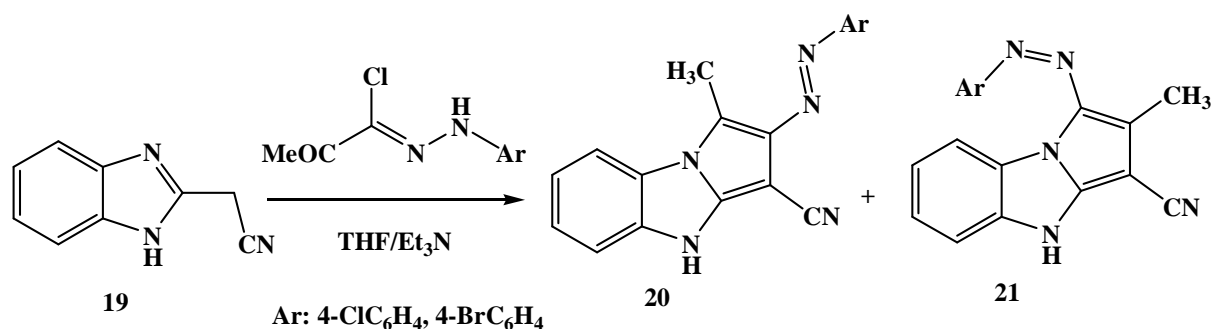
Dans la même série des imidazoles, la réaction de 2-aminobenzimidazole **16** avec C-phényl- et C-éthoxycarbonyl-N-arylnitrilimines a conduit aux amidrazones **17** avec des rendements de l'ordre de 55% [7]. En revanche, la réaction de 2-aminobenzimidazole de C-acétyl-N-phenylnitrilimine a donné le 1-phényl-3-acétyl-1,2,4-triazolo[4,3-a]benzimidazole **18** (schéma 8).

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

[7]. H. A. Elfahham, K. U. Sadek, G. E. H. Elgemeie, M. H. Elnagdi, *J. Chem. Soc. (Perkin Trans. 1)* **1982**, 2663.



Pour sa part, Awadallah et al. [8] ont étudié la réaction de 2-cyanométhylbenzimidazole **19** avec les halogénures d'hydrazonoyle dans le THF à température ambiante. Cette réaction a conduit à deux régioisomères : les pyrrolo[1,2-a]benzimidazoles **20** et **21** (schéma 9).



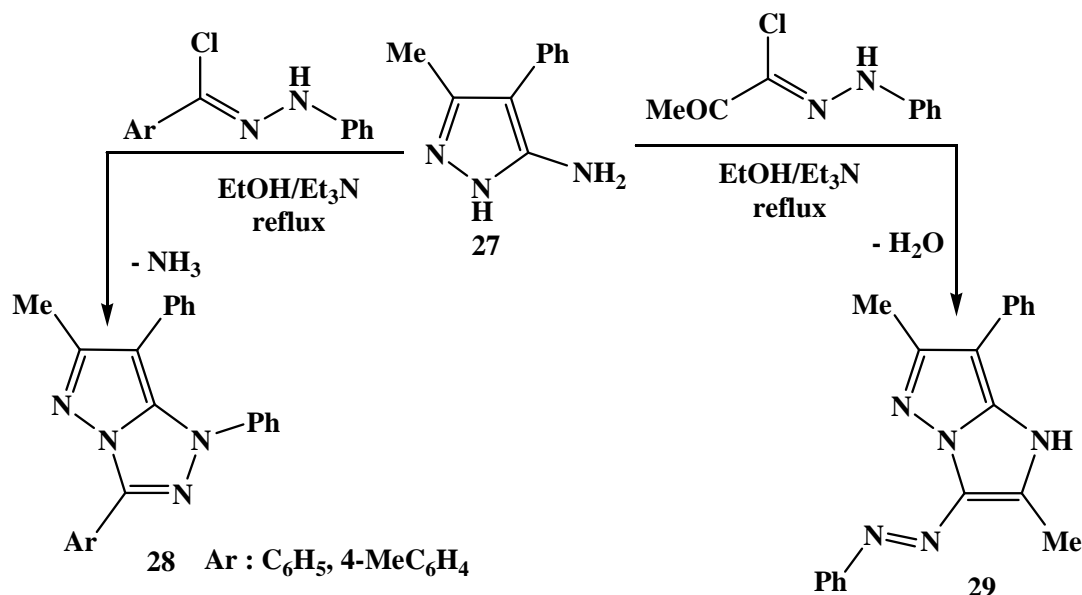
En 2009, Tawfik et al. [9] ont réalisé la synthèse des imidazo[1,2-*b*]-[1,2,4,5]tétrazines **23** en condensant le 1-amino-2-méthylthio-4-phénylimidazole **22** avec une série des halogénures d'hydrazonoyle à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine comme base.

[8]. A. M. Awadallah, K. Seppelt, H. Shorafa. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 7744.

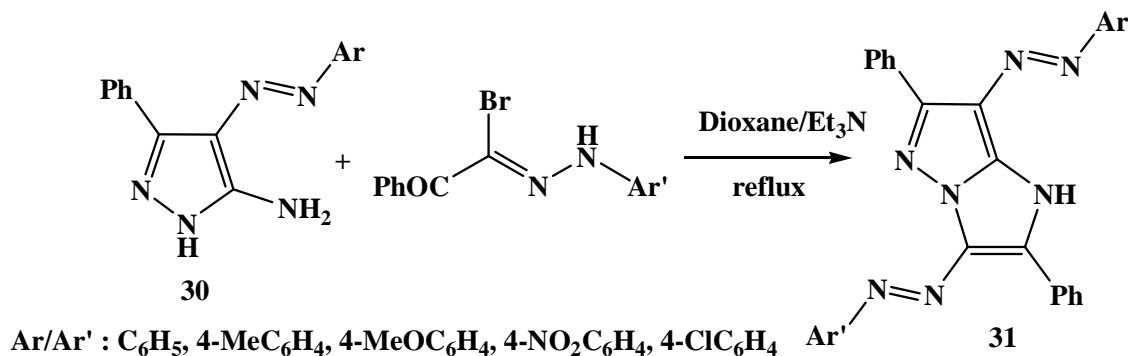
[9]. A. S. Shawali, N. M. Tawfik. *Arch. Pharm. Res.*, **2009**, 32, 975.



Elfahham et al. [12,13] ont étudié les réactions de 5-amino-3-méthyl-4-phénylpyrazole **27** avec les *C,N*-diaryl-nitrilimines et les *C*-acétyl-*N*-phénylnitrilimines à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine. Ces réactions ont permis d'accéder respectivement aux pyrazolo[1,5-*c*][1,2,4]triazoles **28** avec de bon rendements de (74-80%) et aux imidazo[1,5-*b*]pyrazoles **29** avec des rendements de l'ordre de 90% (schéma 13).



Dans la même série de pyrazole, Altalbawy et al. [14] ont synthétisé des dérivés de 3,7-bis(arylazo)-2,6-diphényl-1*H*-imidazo[1,2-*b*]pyrazole **31** à partir de la réaction des *C*-aroyl-*N*-arylnitrilimines avec les 5-amino-3-phényl-4-arylazopyrazoles **30** à reflux de dioxane, en présence de la triéthylamine (schéma 14). Les composés **31** sont isolés avec des rendements allant de 70% à 90%.



- [12]. G. H. Elgemeie, H. A. Elfahham, S. A. S. Ghozlan, M. H. Elnagdi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, 57, 1650.  
 [13]. H. A. Elfahham, F. F. Abdel-Latif, S. K. Mohamed, *Indian J. Chem.* **1990**, 29B, 381.  
 [14]. A. S. Shawali, M. H. Abdelkader, F. M. A Altalbawy. *Tetrahedron*, **2002**, 58, 2875.

En 2009, Shawali et al. [15] ont décrit la synthèse de 3,4'-bis(pyrazolyl)cétones **33** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des énamines pyrazoliques **32** avec la nitrilimine générée in situ par déshydrochloration du chlorure de *N*-phényl-2-oxopropanehydrazonoyle (schéma 15). Cette réaction est régiosélective. Un seul cycloadduit a été identifié.

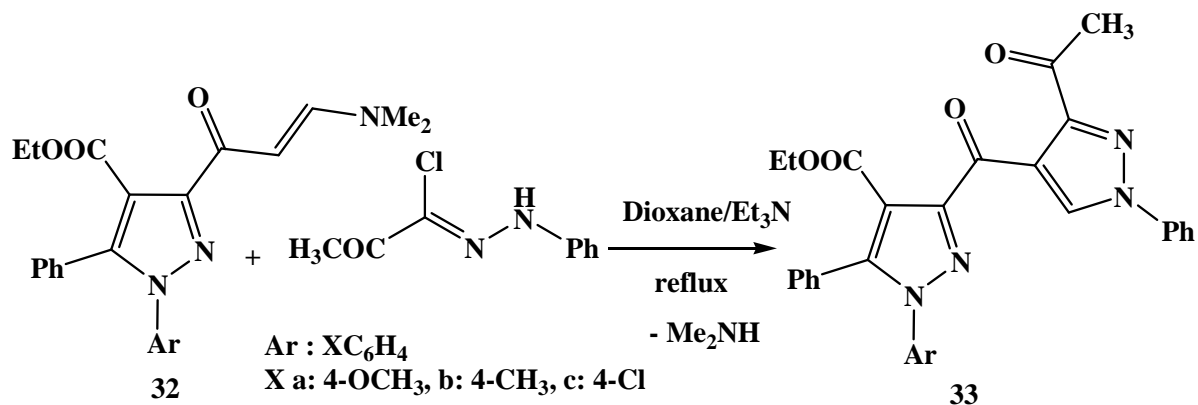


Schéma 15

Un résultat analogue [16] est observé lors de la réaction de condensation des cétonesulfones pyrazoliques **34** avec les halogénures d'hydrazonoyle dans l'éthanol en présence de l'éthanoate de sodium à température ambiante. Les 5'-acétyl-1-aryl-2',5-diphényl-4'-(phenylsulfonyl)-1*H*,2'*H*-3,3'-bipyrazole-4-carbonitriles **35** sont isolés avec de bons rendements 78% (schéma 16).

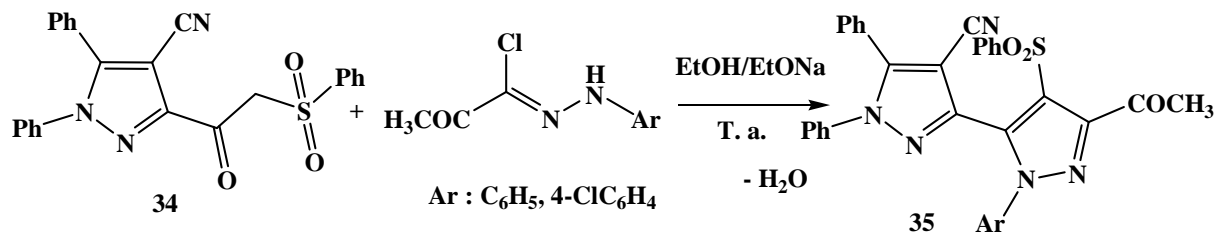


Schéma 16

En 2005, L'équipe d'Abdelhamid [17] a synthétisé une série de molécules hétérocycliques de type : 1,3,4-thiadiazoles **37** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 du méthyl pyrazole-4-dithiocarboxylates **36** avec différents halogénures d'hydrazonoyle (schéma 17). La réaction est stéréosélective. Seule la double liaison thioxo est attaquée.

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

[16]. K. M. Dawood, N. A. Kheder, E. A. Ragab, S. N. Mohamed. *Phosp. Sulf. Silicon*, **2010**, 185, 330.

[17]. A. O. Abdelhamid, A. Al-toom. *Phosp Sulf Silicon* **2004**;179:2221-33.



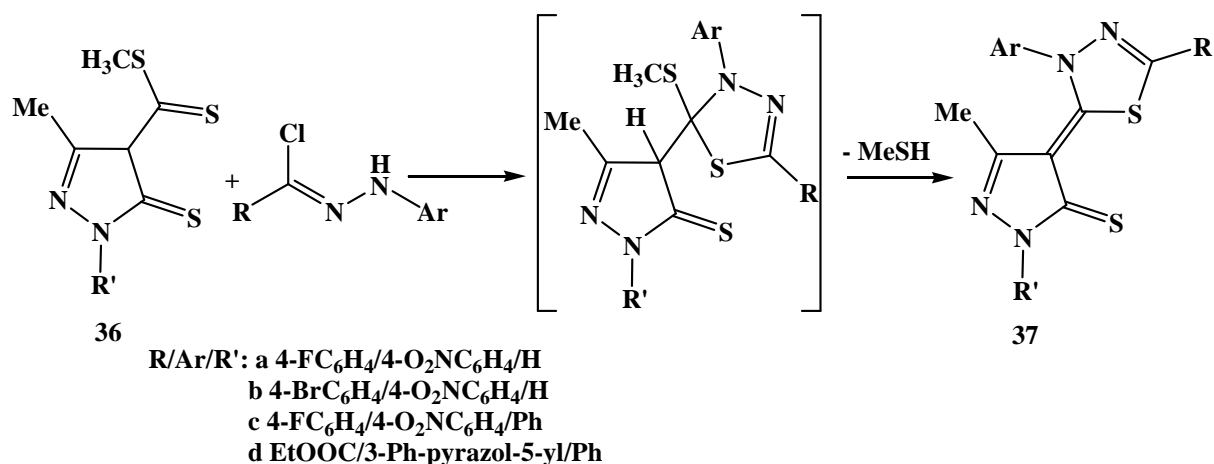


Schéma 17

### I-3 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de la triazole

La réaction de 5-méthylthio-3-phenyl-4H-1,2,4-triazole **38** avec différents halogénures d'hydrazonoyle a conduit aux 1,3,5-trisubstitués-1,2,4-triazolo[3,4-c][1,2,4]triazoles **39** issus de l'addition du dipôle sur le site dipolarophile C=N du composé **38** (schéma 18) [18-20].

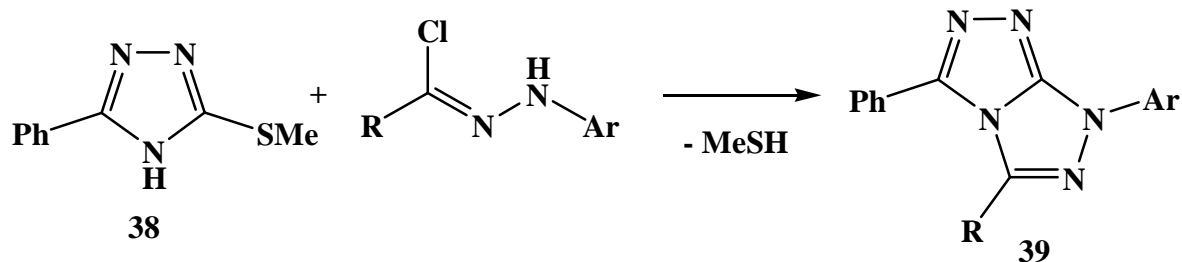


Schéma 18

Récemment de nouveaux bis(imidazo[1,2-b][1,2,4]triazoles) **41** ont été synthétisé à partir de la réaction de 3-amino-1,2,4-triazole **40** avec les halogénures bis-hydrazonoyle à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine [21]. Cette réaction a conduit initialement à l'amidrazone, suivie par la cyclisation intramoléculaire avec déshydratation pour aboutir au produit final **41** (schéma 19).

[18]. M. A. N. Mosselhi, M. A. Abdallah, S. M. Riyadh, A. E. Harhash, A. S. Shawali, *J. Prakt. Chem.* **1998**, 340, 160.

[19]. M. A. Abdallah, M. A. N. Mosselhi, S. M. Riyadh, A. E. Harhash, A. S. Shawali, *J. Chem. Res.* **1998**, 700, 3038.

[20]. A. S. Shawali, M. A. Abdallah, I. M. A. Abbas, G. M. Eid, *J. Chin. Chem. Soc.* **2004**, 51, 351.

[21]. N. A. Kheder, T. A. R. Farghaly, *Arab. J. Chem.*, **2013**, sous presse

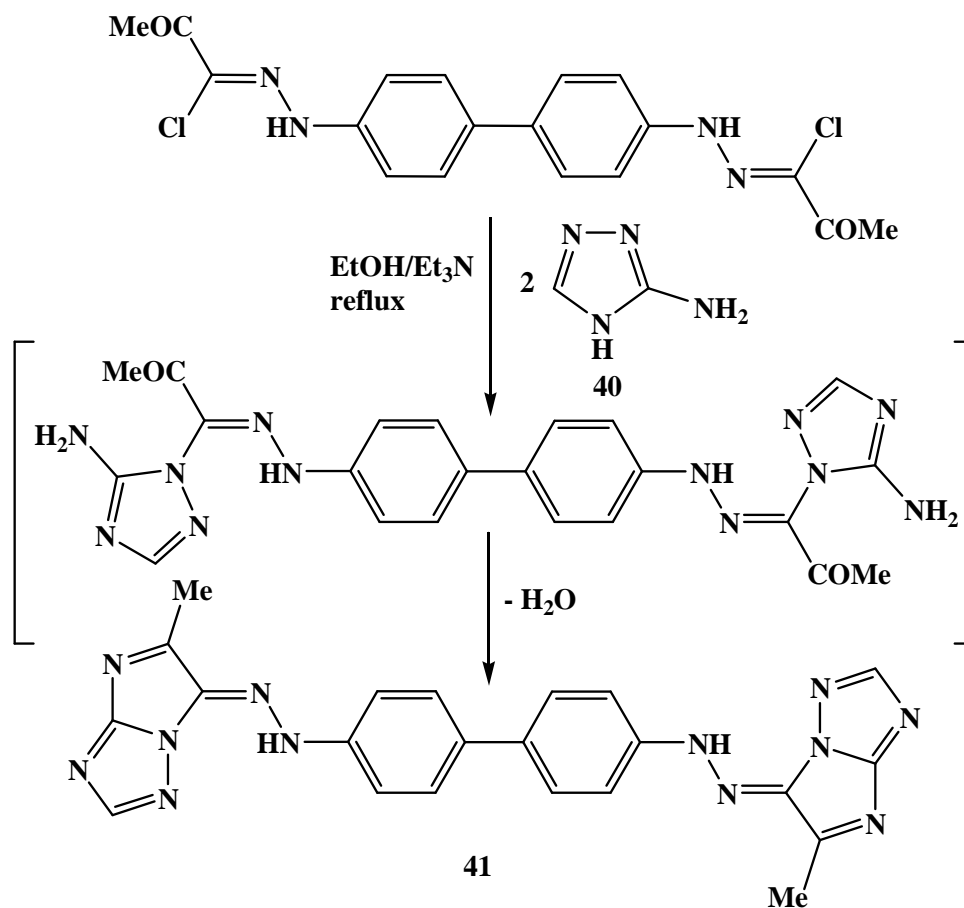
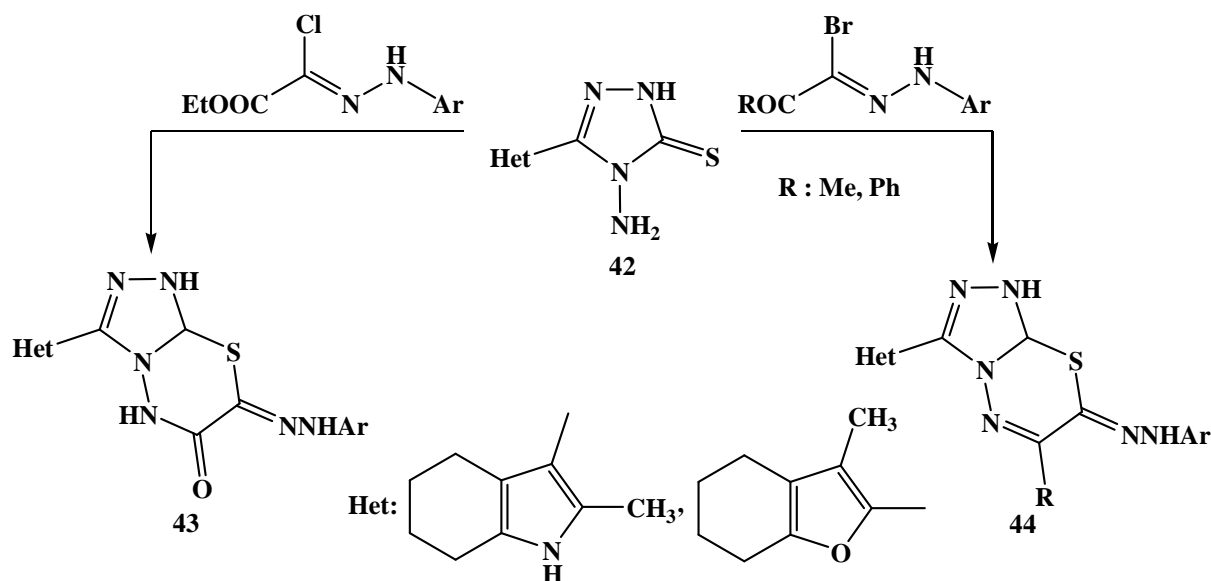


Schéma 19

Des composés hétérocycliques de type 7-arylhrazono-7*H*-3-hétéroaryl-triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-6(5*H*)-ones **43** et **44** ont été synthétisés par la réaction de condensation de 4-amino-5-hétéroaryl-[1,2,4]-triazole-3(2*H*)-thiones **42** respectivement avec les halogénures d'éthyl arylhydrazonochloroacétate et *N*-aryl-2-oxoalkane hydrazonoyle (schéma 20) [22,23].

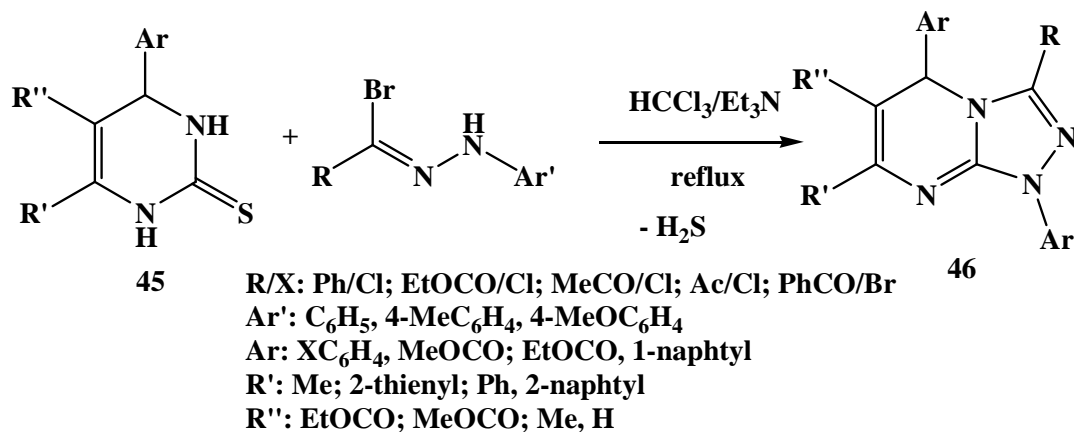
[22]. M. A. Abdallah, S. M. Riyadh, I. M. Abbas, S. M. Gomha. *J. Chin. Chem. Soc.* **2005**, 52, 987.

[23]. K. M. Dawood, A. M. Farag, H. A. Abdelaziz. *Heteroatom Chem.* **2005**, 16, 621



#### I-4 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de la Pyrimidine

La réaction de 2-pyrimidinethione **45** avec les halogénures d'hydrazonoyle à reflux du chloroforme et en présence de la triéthylamine conduit généralement aux dérivés de la 1*H*,5*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrimidine **46** avec de bons rendements (schéma 21). [24-28]



[24]. S. M. Abdelgawad, M. S. Elgendi, A. O. Abdelhamid. *J. Sulfur Chem.* **2005**, 26, 21.

[25]. A. O. Abdelhamid, A. Altoom, *Synthetic Commun.* **2006**, 36, 97.

[26]. A. O. Abdelhamid, Z. H. Ismail, M. S. El-Gendy, M. M. Ghorab *Phosphorus, Sulfur & Silicon* **2007**, 182, 2409.

[27]. A. O. Abdelhamid, H. M. Aldelaziz. *Phosphorus, Sulfur & Silicon* **2007**, 182, 2791.

[28]. A. O. Abdelhamid, M. A. M. Alkhodishi. *Phosphorus, Sulfur & Silicon* **2005**, 180, 149.

Des résultats similaires ont été observés lors de la réaction de condensation des 2-thiouraciles **47** et leurs dérivés 2-méthylthiouraciles **48** avec les halogénures d'hydrazonoyle. La réaction conduit régiosélectivement aux 1,2,4-triazolo[4,3-*a*]pyrimidinones **49** (schéma 22) [29-37].

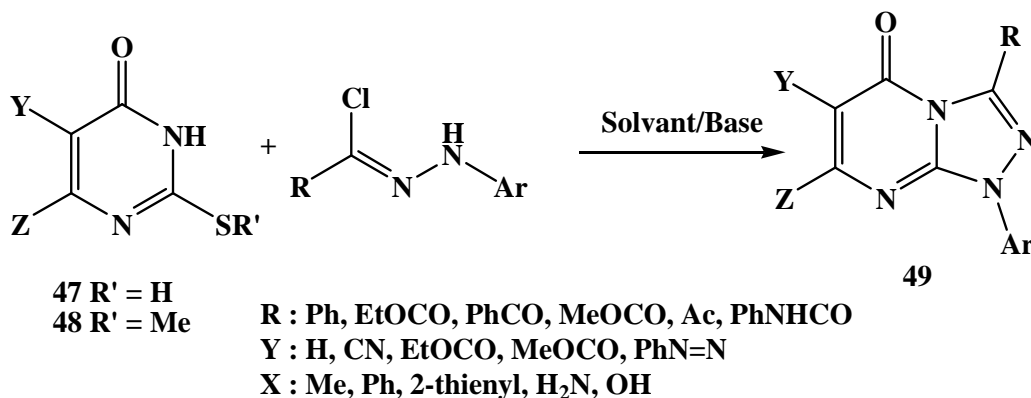


Schéma 22

La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des pyrimidine-2(1*H*)-thiones **50** avec les halogénures d'hydrazonoyle à reflux du benzène en présence de la triéthylamine à température ambiante conduit péri- et régiosélectivement aux dérivés spirocycloadduits **51** (schéma 23) [38].

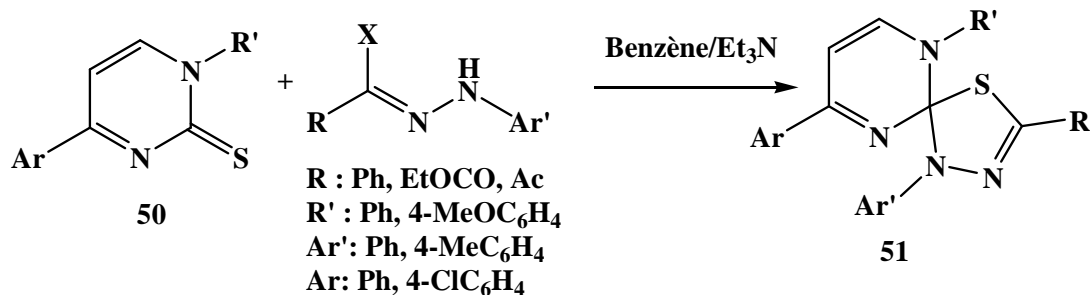


Schéma 23

- [29] A. S. Shawali, A. H. Elghandour, A. R. Sayed. *Synthetic Commun.* **2001**, 31, 731.  
[30] A. S. Shawali, M. A. Abdallah, M. A. N. Mosselhi, T. A. Farghaly. *Heteroatom Chem.* **2002**, 13, 136.  
[31] M. A. N. Mosselhi. *Mon. Chem.* **2002**, 133, 1297.  
[32] M. A. N. Mosselhi, M. A. Abdallah, T. A. Farghaly, A. S. Shawali. *Monatsh. Chem.* **2004**, 135, 211.  
[33] A. S. Shawali, I. M. Abbas, A. M. Mahran, *J. Iranian Chem. Soc.* **2004**, 1, 33.  
[34] A. S. Shawali, A. M. Mahran, A. A. Nada. *Heteroatom Chem.* **2007**, 18, 393.  
[35] H. M. Hassaneen, H. A. Abdelhadi, T. A. Abdallah. *Tetrahedron* **2001**, 57, 10133.  
[36] S. M. Riyadh. *J. Chin. Chem. Soc.* **2005**, 52, 545.  
[37] A. O. Abdelhamid, A. Altoom. *Synthetic Commun.* **2006**, 36, 97.  
[38] L. Grubert, M. Patzel, W. Jugelt, B. Riemer, J. Liebscher, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 1005.

Récemment, Abdelhamid et al. [39] ont pu synthétiser des triazolino[4,3-a]pyrimidines **53** contenant le motif benzofurane à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des pyrimidinethiones **52** avec l'halogénure hydrazonoyle furanique dans le chloroforme en présence de la triéthylamine (schéma 24).

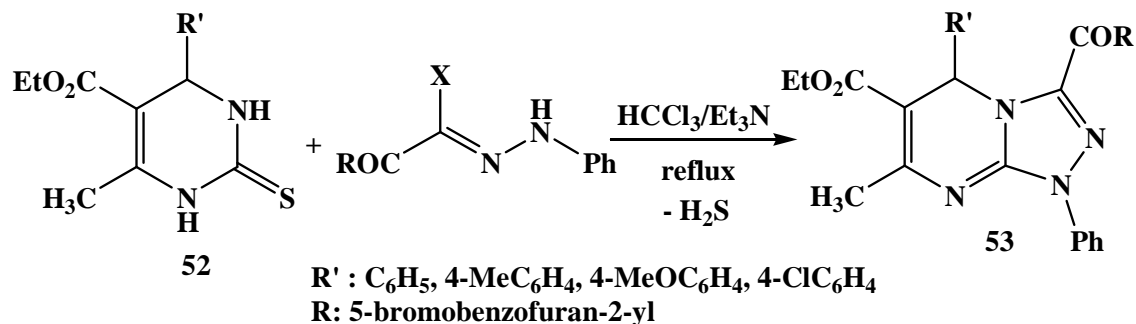


Schéma 24

Très récemment, le groupe de Farghaly [40] a développé de nouveaux dérivés de pyrido[2,3-d][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidin-5-one **55** via la réaction de cycloaddition de 7-(4-bromophenyl)-1,2-dihydro-5-(4-fluorophenyl)-2-thioxopyrido[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one **54** avec le chlorure d'hydrazonoyle porté à reflux du dioxane en présence de la triéthylamine. La réaction est régiosélective. Seule la double liaison thioxo est attaquée (schéma 25).

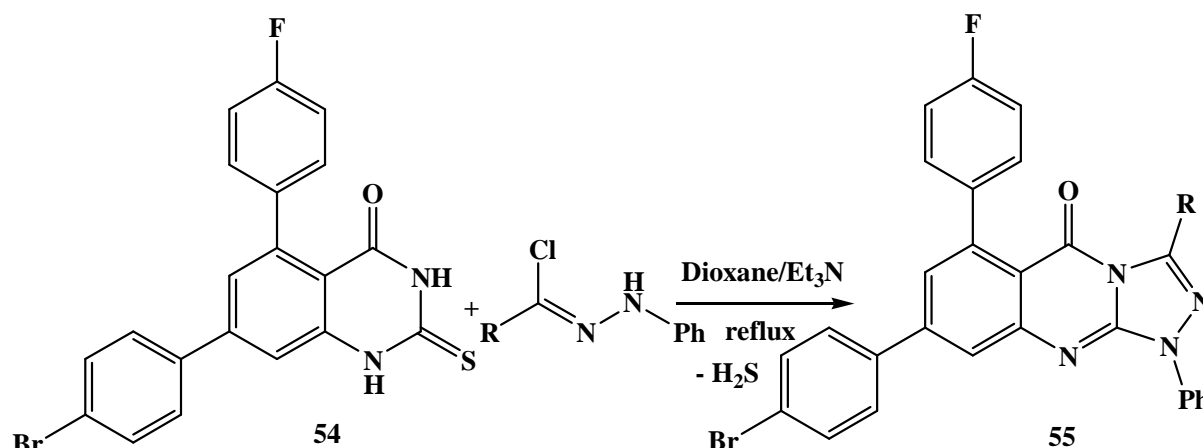


Schéma 25

Shawali et al. [41], en 2000, ont décrit la synthèse des pyrimido[1,2-b][1,2,4,5]tétrazines **57** en faisant réagir les nitrilimines avec le 3-amino-6-méthyl-4-oxo-2(3H)-pyrimidinethione **56** à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine (schéma 26).

[39]. A. O. Abdelhamid, A. A. Fahmi, B. S. Baoui. *J. Heterocyclic Chem.*, **2012**, 49, 1098.

[40]. T. A. Farghaly, H. M. E. Hassaneen. *Arch. Pharm. Res.* **2013**, 36, 564.

[41]. A. S. Shawali, A. A. Elghandour, S. M. Elsheikh, *Heteroatom Chem.* **2000**, 11, 87.

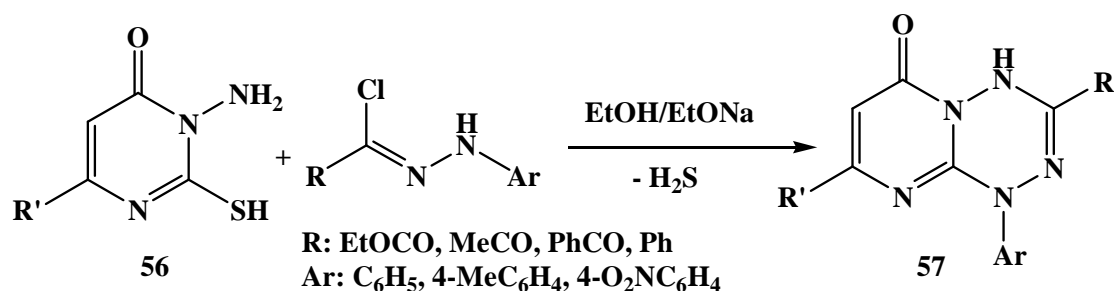


Schéma 26

### I-5 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec les dérivés de 1,2,4-Triazine

L'action des halogénures d'hydrazonoyle sur les 3-thio-1,2,4-triazin-5(2*H*)-ones et leurs homologues 3-méthylthio **58** à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine, conduit aux 1,2,4-triazolo[4,3-*b*][1,2,4]triazin-7(1*H*)-ones **59** (schéma 27). [42,43]

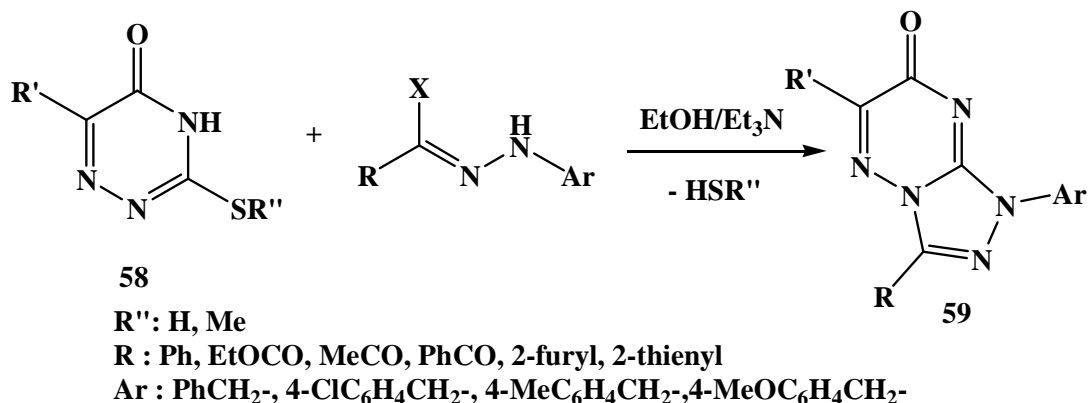


Schéma 27

Shawali et al. [44] ont décrit la synthèse des dérivés de la [1,2,4]triazino[4,3-*b*][1,2,4,5]tetrazine **61** à partir de la réaction de condensation des 4-amino-2,3-dihydro-6-substitué-3-thio-1,2,4-triazin-5(2*H*)-ones **60** et leurs homologues méthylthio avec différents dipôles générés in situ via les halogénures d'hydrazonoyle (schéma 28).

[42]. Mansour, A. K.; Elwan, N. M.; Abdelhadi, H. A.; Abdallah, T. A.; Hassaneen, H. M. *Sulfur Lett.* **1995**, 18, 105.

[43]. A. S. Shawali, S. M. Gomha, *J. Prakt. Chem.* **2000**, 342, 599.

[44]. A. S. Shawali, A. A. Elghandour, S. M. Elsheikh. *J. Prakt. Chem.* **2000**, 342, 96.

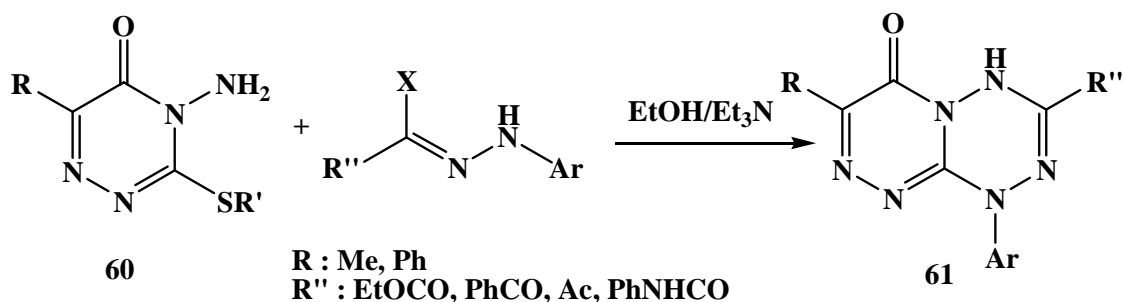


Schéma 28

D'autres hétérocycles de type spiro[3*H*-1,3,4-thiadiazole-2,6'-1,4,5,6-tétrahydro-1,2,4-triazine] **63** [45] ont été synthétisés à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de 3-phenyl-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-6(1*H*)-thione **62** avec le bromure *N*-méthylbenzène carbohydrazonoyle dans le chloroforme en présence de la triéthylamine (schéma 29). Les cycloadduits **63** sont obtenus via une addition préférentielle du dipôle sur le site dipolarophile thiooxo. La réaction est régiosélective.

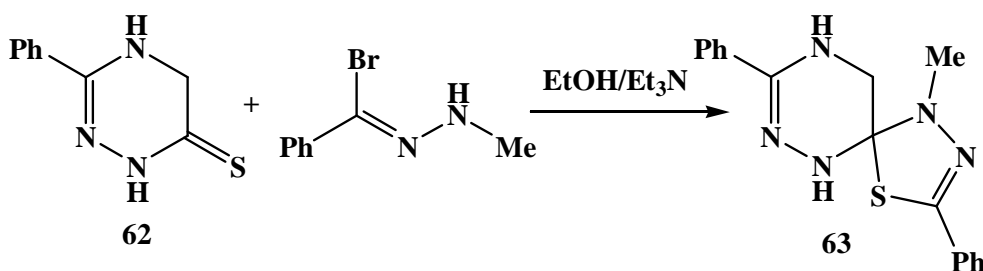


Schéma 29

### I-6 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec des hétérocycles condensés

En série purinethione, Tawfik et al. [46] ont étudié la réaction des halogénures hydrazonoyle avec la théophylline-8-thione **64** et son homologue 8-méthylthiothéophylline **65** à reflux de la pyridine. Cette méthode a permis d'accéder aux dérivés [1,2,4] triazolo[3,4-*f*] purine disubstitués **66** avec de bons rendements (schéma 30). La formation des composés **66** a été réalisée à partir de l'addition du dipôle sur le site dipolarophile C=N de la molécule **65** et via l'intermédiaire ester thiohydrazonate issu de la réaction de **64** avec le dipôle, qui se réarrange par la suite pour donner le composé **66**.

[45]. D. Collins, T. Hughes, W. M. Johnson. *Aust. J. Chem.* **2000**, 53, 137.

[46]. A. S. Shawali, M. A. N. Mosselhi, N. M. Tawfik. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4055

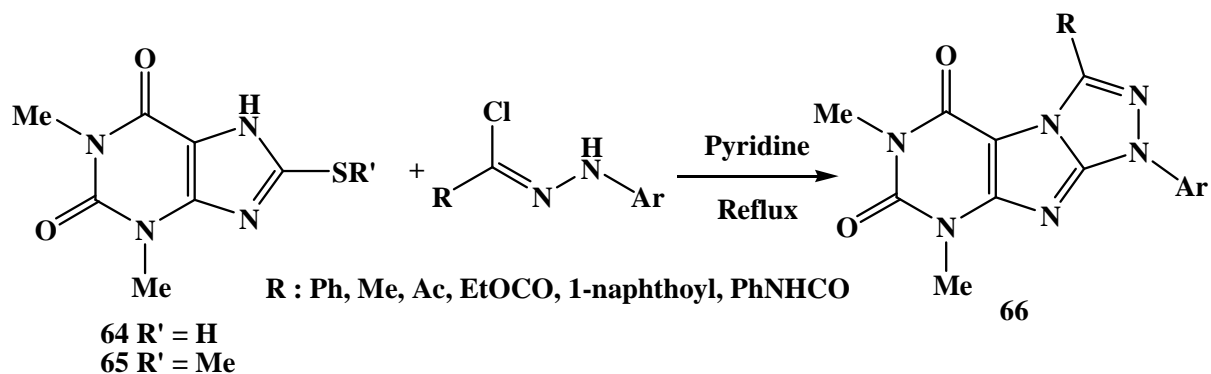


Schéma 30

La réaction des halogénures d'hydrazonoyle avec le 5-amino-1-phenyl-6-thioxopyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-one **67** et son dérivé méthylthio **68** portée à reflux de dioxane en présence de la triéthylamine a donné les pyrazolo[3,4-d]pyrimido[1,2-b][1,2,4,5]tétrazines **69** [47] (schéma 31). Le mécanisme de formation des composés **69** est identique à celui proposé pour la formation des composés **66** (schéma 30).

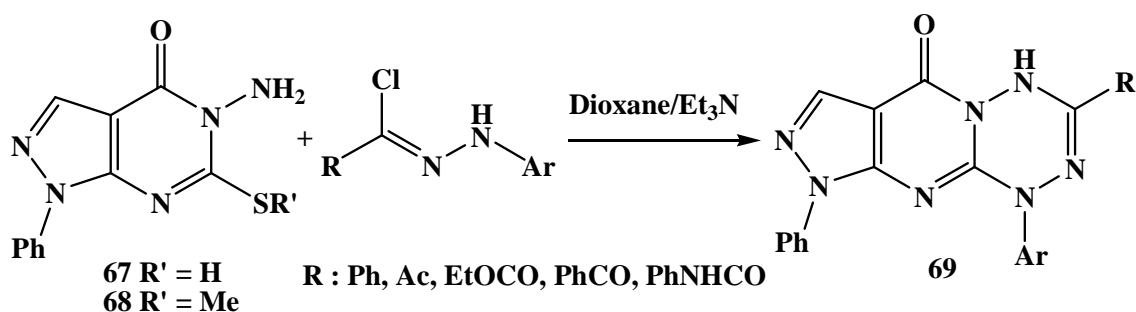


Schéma 31

D'autres auteurs [48,49] ont étudié la réactivité des pyridino[2,3-d]-2-thiouraciles **70** avec une variété de nitrilimines régénérés in situ à partir des halogénures d'hydrazonoyle. Cette réaction a permis d'accéder aux pyridino[2,3-d]triazolo[4,3-a]pyrimidin-5-ones **71** avec de bons rendements (Schéma 32).

[47]. M. A. N. Mosselhi, A. M. Hussein, A. S. Shawali. *J. Chin. Chem. Soc.* **2006**, 53, 923.

[48]. H. M. Hassaneen, Abdallah, T. A. *Molecules* **2003**, 8, 333.

[49]. A. S. Shawali, M. A. N. Mosselhi, A. M. Hussein. *J. Sulfur Chem. Soc.* **2006**, 27, 329.



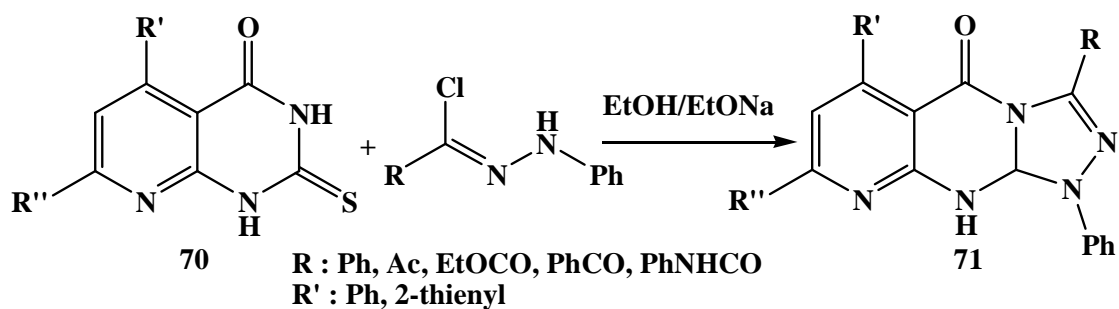


Schéma 32

En série de ptéridinethiones [50], la réaction des dérivés de 2-thioxoptéridine-4(3H)-one **72** avec les halogénures d'hydrazonoyle à reflux du tétrahydrofur en présence de la triéthylamine a permis d'obtenir les 1,2,4-triazolo[3,4-*b*]ptéridines **73** avec de bons rendements (schéma 33).

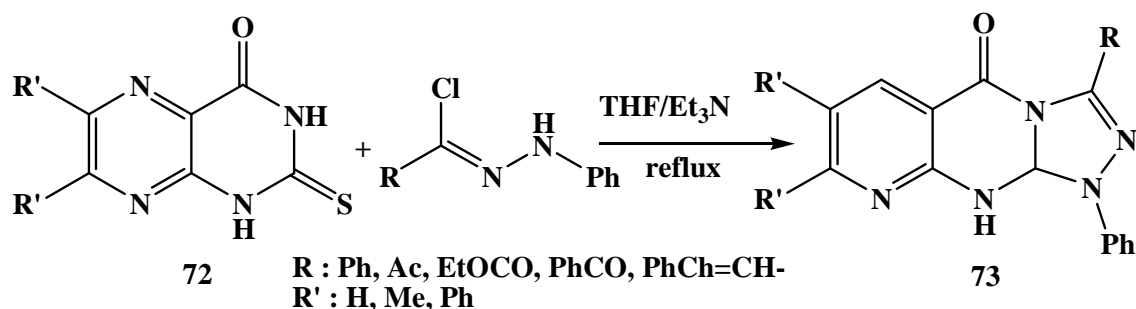


Schéma 33

En série quinoxalinethiones [51], une série de molécules de type 1,3,4-thiadiazino[5,6-*b*] quinoxalines **75** disubstitués ont été obtenus par condensation de 2-amino-3-quinoxalinethiole **74** avec différents nitrilimines régénérés in situ dans l'éthanol en présence de l'éthanoate de sodium (schéma 34).

[50]. T. A. Abdallah, M. A. Darwish, H. M. Hassaneen. *Molecules* **2002**, 7, 494

[51]. A. S. Shawali, M. A. N. Mosselhi, T. A. Farghaly. *Phosphorus, Sulfur & Silicon* **2005**, 52, 2391.

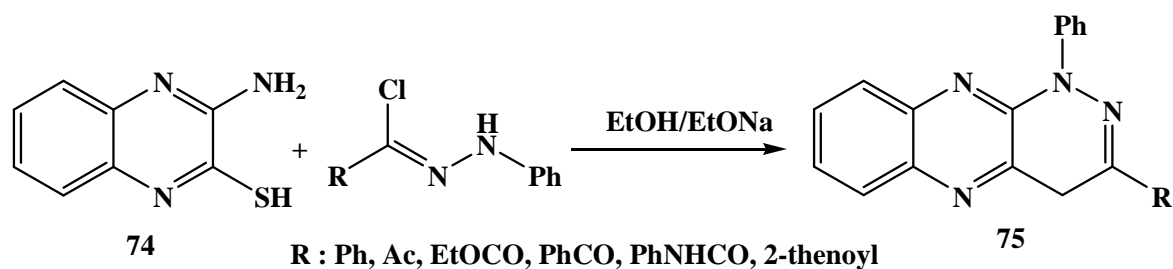


Schéma 34

De leurs parts, Riyadh et al. [52] ont étudié la réactivité de 3-amino-2,3-dihydro-7,9-diméthyl-2-thioxo-pyrido[3',2':4,5]-thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one **76** et son homologue 2-méthylthio **77** vis-à-vis de quelques dérivés de l'halogénure hydrazonoyle dans l'éthanol en présence de la triéthylamine comme base. Cette réaction a permis d'obtenir de nouveaux systèmes tétracycliques dérivés de la tétrazine (schéma 35).

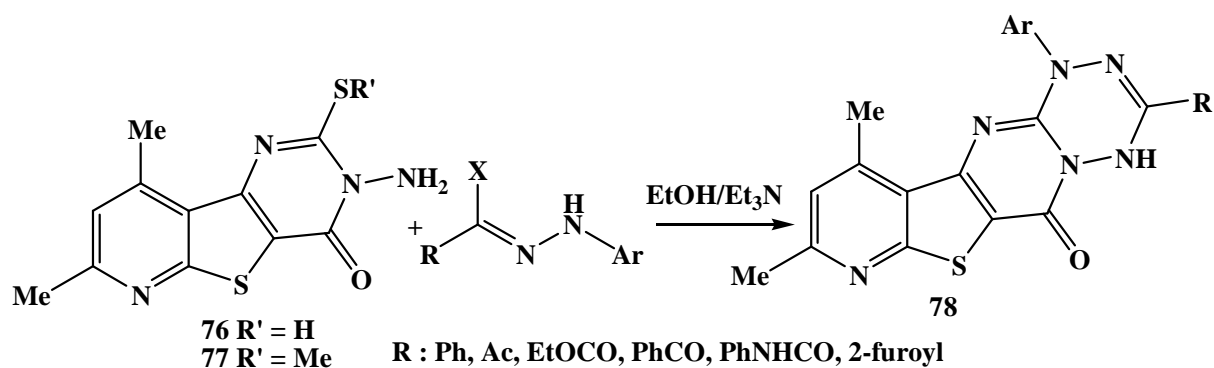


Schéma 35

Cependant la réaction de 2,3,5,6,7,8,9-heptahydro-2-thioxo-4H-cyclohepta[4,5]thieno[2,3-d] pyrimidin-4-one **79a** et de son dérivé méthylthio **79b** avec différents halogénures d'hydrazonoyle conduit dans tous les cas aux dérivés 5H-cyclohepta[4,5]-thino[2,3-d][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidin-5-one **80** (schéma 36) [53].

[52]. I. M. Abbas, S. M. Riyadh, M. A. Abdallah, S. M. Gomha *J. Heterocycl. Chem.* **2006**, 43, 935.

[53]. A. S. Shawali, N. A. H. Ali, A. S. Ali, D. A. Osman. *J. Chem. Res.* **2006**, 323.

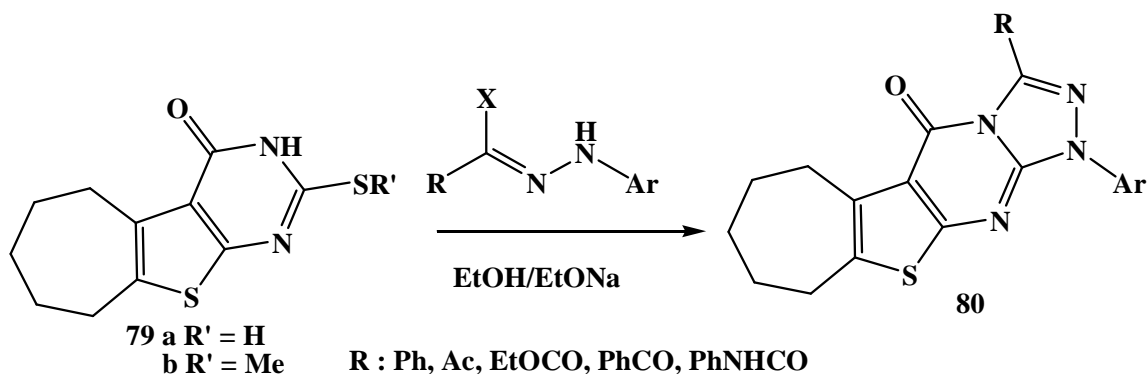


Schéma 36

Le traitement de la molécule **81a** et son dérivé méthylthio **81b** avec des halogénures d'hydrazonoyle dans l'éthanol en présence de l'éthanoate de sodium à température ambiante a donné les 1,7,8,9,10,11-hexahydro-4*H*,6*H*-cyclohepta[4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-*b*][1,2,4,5]tétrazine-6-ones **82** (schéma 37) [54].

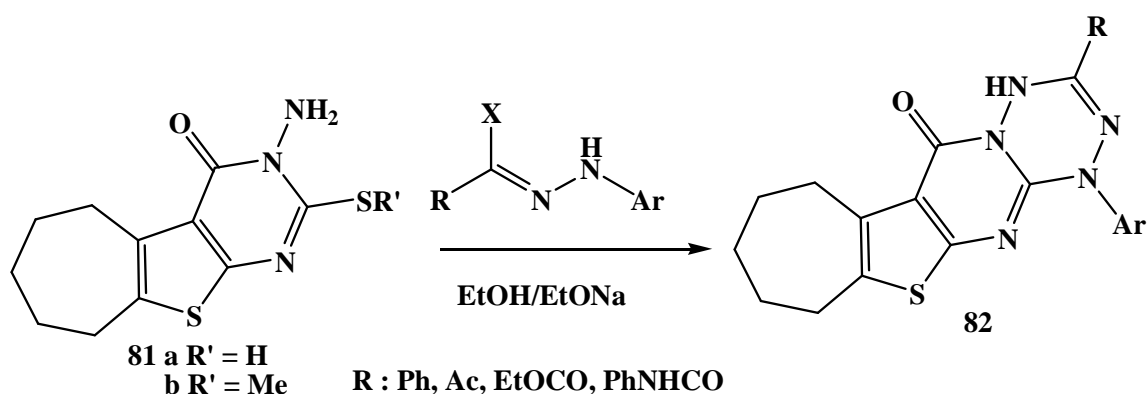


Schéma 37

En 2003, Al-Zaydi [55] a étudié la réactivité de la pyrone énamine **83** vis-à-vis du *C*-acétyl-*N*-phénylnitrilimine à reflux de l'éthanol en présence de la triéthylamine. Cette réaction de cycloaddition a permis d'accéder au dérivé pyrazolique **84** avec des rendements modérés (schéma 38). Seule la double liaison énamine C=C a été affectée. La réaction est péri- et régiosélective.

[54]. N. A. Hassan, *J. Sulfur Chem.* **2006**, 27, 605.

[55]. K. M. Al-Zaydi, *Molecules* **2003**, 8, 541.

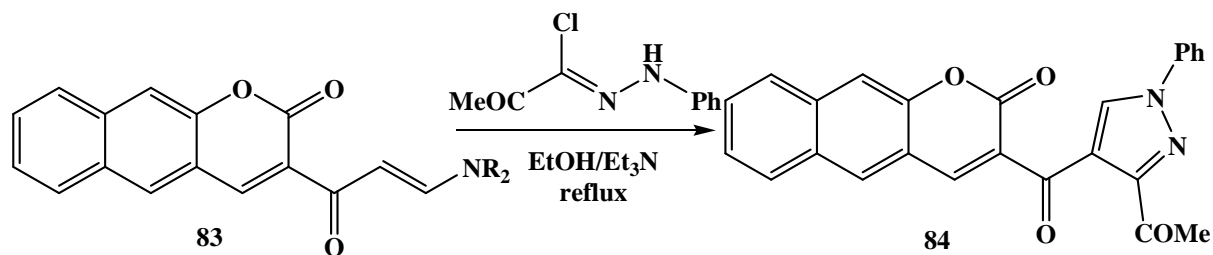


Schéma 38

La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de 1-éthoxycarbonylméthylène-3,4-dihydro-6,7-diméthoxyisoquinoline **85** avec les *C*-acyl-*N*-arylnitrilimines dans l'éthanol en présence de la triéthylamine conduit aux 5,6-dihydropyrrolo[2,1-*a*]-5,6-dihydroisoquinolines **86** avec des rendements allant de 78% à 82% (schéma 39) [56].

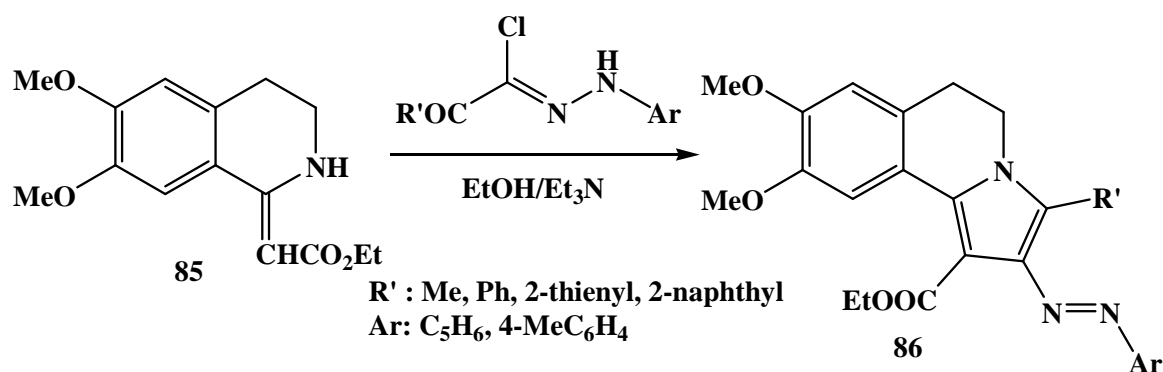


Schéma 39

Récemment Farghaly et al. [57] ont étudié la réaction de 4-(4-méthoxyphényl)-1,3,4,5,6,7-hexahydro-2-thioxo-benzo[6,7]cyclohepta[1,2-*d*]-pyrimidine **87** avec les halogénures d'hydrazonoyle à reflux du dioxane en présence de la triéthylamine. Ces conditions ont conduit dans tous les cas à un seul composé de structure benzo[6,7]cyclohepta[1,2-*d*]triazolo[4,3-*a*]pyrimidine **88** (schéma 40).

[56]. T. A. Abdallah. *Synth. Commun.* **2002**, 32, 2459.

[57]. T. A. Farghaly, S. M. Gomha, E. M. H. Abbas, M. M. Abdalla. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2012**, 345, 117.

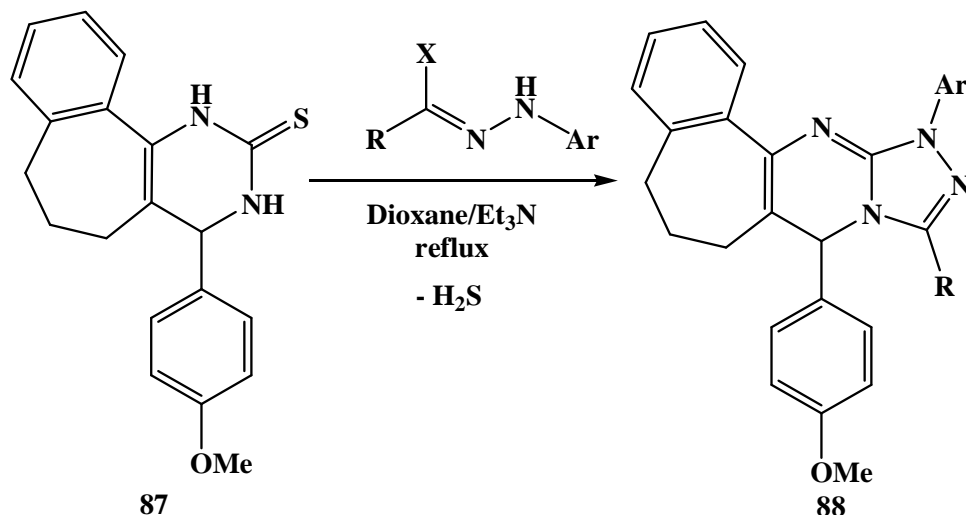


Schéma 40

Très récemment, le groupe d'Abdelhamid [58] a étudié la réaction de condensation de 3-(benzofuran-2-yl)-3-oxopropanenitrile **89** avec différents halogénures d'hydrazonoyle. Cette réaction a permis d'obtenir les 5-(benzofuran-2-yl)-4-cyano-1-phenyl-1*H*-pyrazole **90** avec d'excellents rendements (schéma 41)

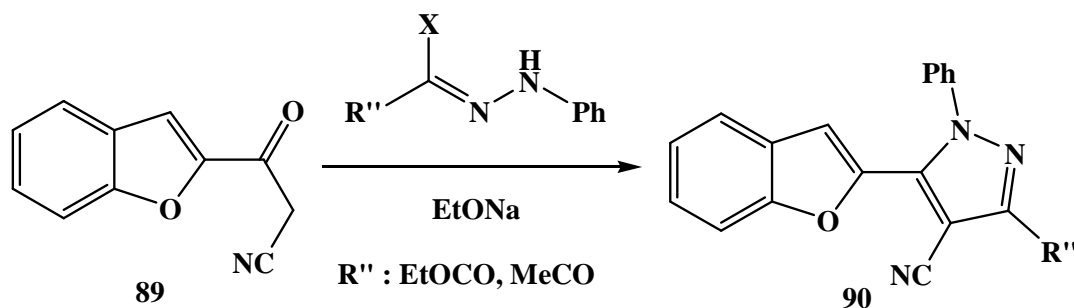


Schéma 41

Gomha et al. [59] ont récemment développé la synthèse de nouveaux tétrahydro benzothienothiadiazolopyrimidinone **92** *via* la réaction de différents nitrilimines régénérés in situ à partir des chlorures d'hydrazonoyle avec l'acide 2-amino-tétrahydro benzo[b]thiophene-3-carboxylique **91** (schéma 42).

[58]. A. Abdel-Aziem, A. O. Abdelhamid. *International Journal of Advanced Research*, **2013**, 1, 717.

[59]. S. M. Gomha, H. M. Abdel-Aziz. *Int. Journal of Engineering Research and Applications*, **2013**, 3, 694.

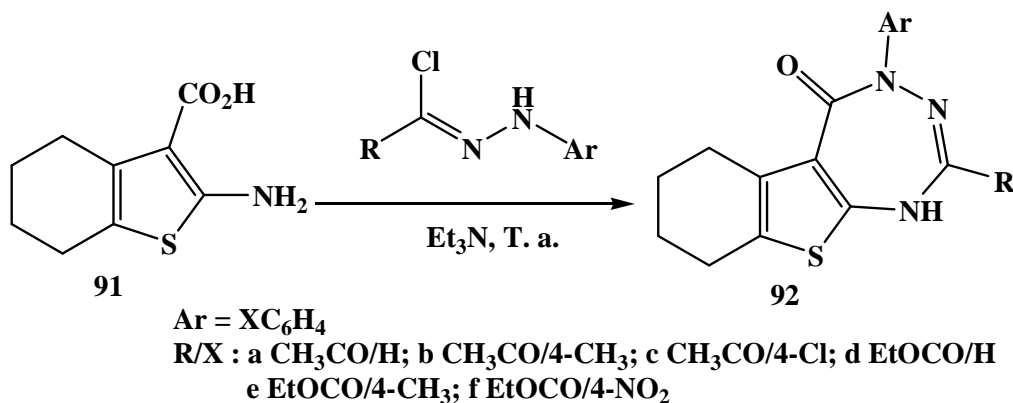


Schéma 42

En 2002, Molteni et coll. [60] ont décrit la synthèse d'un mélange diastéréoisomère de [1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazépinones issu de l'addition du dipôle 1,3 régénéré in situ sur la 1,4-benzodiazépin-4-one **93** (schéma 43).

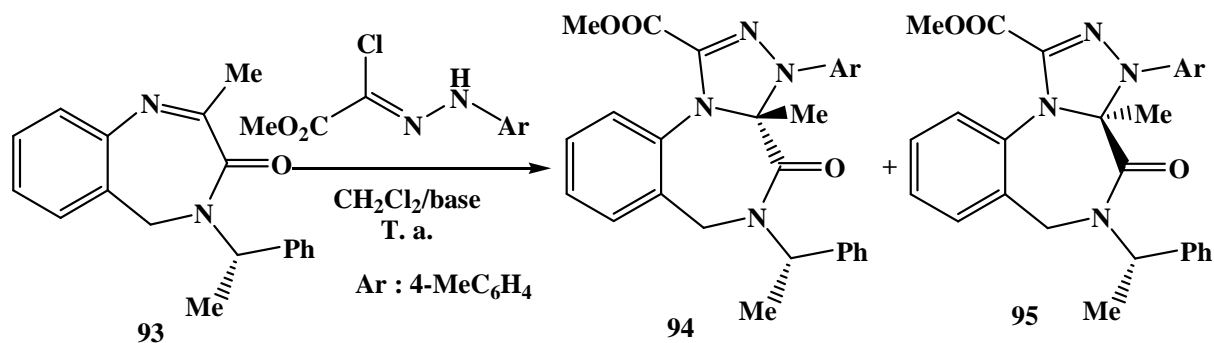


Schéma 43

Des travaux de recherche récents [61] ont été réalisés dans le but d'étudier la réactivité de la quinoxaline **96** vis à vis de différents nitrilimines régénérés in situ à partir du chlorure d'hydrazonoyle. Cette réaction a permis d'accéder aux bis-cycloadduits issus de l'addition du dipôle sur la double liaison C=N (schéma 44).

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

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

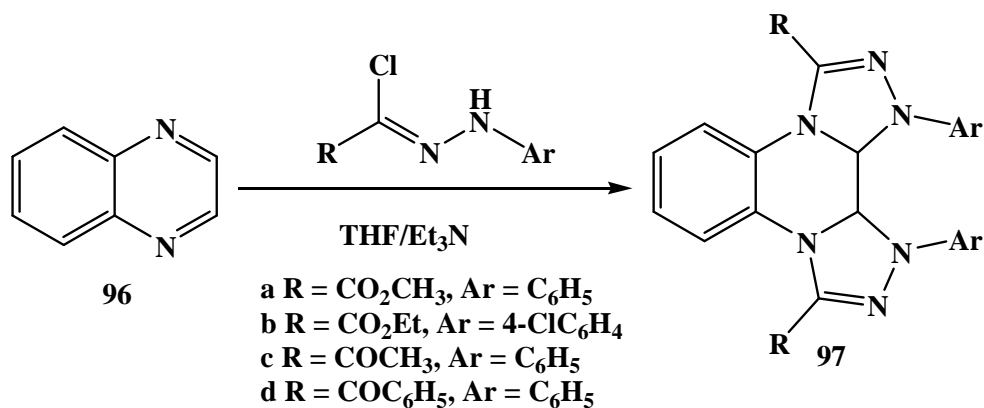


Schéma 44

Les mêmes conditions expérimentales appliquées sur la quinoxaline **98** substituée en position 2 par un groupe méthyle ont conduit en plus du bis-cycloadduit **99** au cycloadduit de type spiro 2,1'-diaryl-2,4,1',10'-a-tétrahydro-9'H-spiro{pyrazolo-3,10'-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinoxaline} **100** (schéma 45).

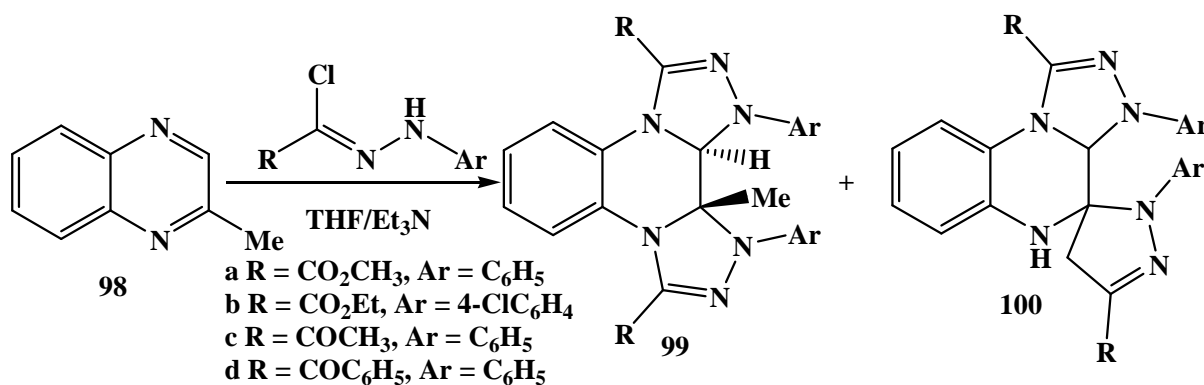


Schéma 45

Pour la synthèse des spirohétérocycles via le précurseur de l'halogénure hydrazonoyle plusieurs travaux de recherche ont été décrits dans la littérature, en particulier l'étude de la réactivité des hétérocycles thioxo vis-à-vis des halogénures d'hydrazonoyle.

### I-7 Réactions des halogénures d'hydrazonoyle avec des hétérocycles thioxo : synthèse des spirohétérocycles

En 2000, des travaux qui ont été élaborés au sein de notre équipe [62] ont décrit la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de la pyrazolo[1,5,4-*ef*][1,5]benzodiazépine-6-thione **101** avec des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines régénérés in situ à partir du bromure d'hydrazonoyle en présence de la triéthylamine. Dans tous les cas un seul produit de type spiro[4*H*-1,4-diazépin-6-ene[1,2,3-*hi*]imidazole-2,2'-2*H*-1,3,4-thiadiazole] **102** a été identifié (schéma 46). Seule la double liaison thioxo a été attaquée. La réaction est péri- et régiosélective.

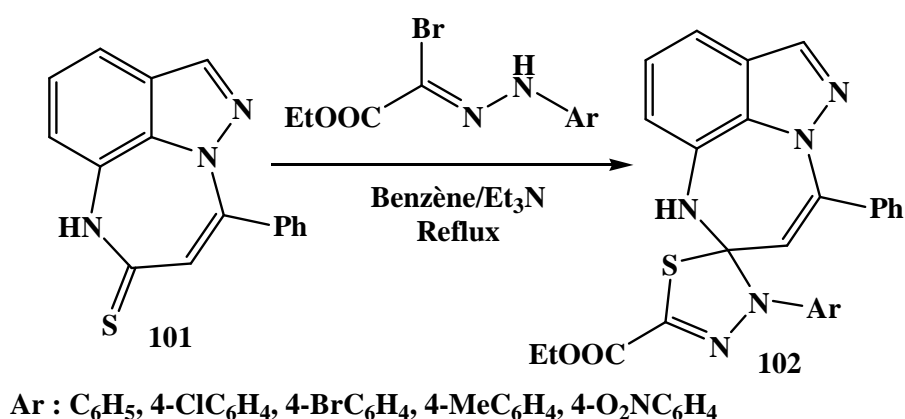


Schéma 46

Les mêmes conditions expérimentales citées ci-dessus appliquées au 2,3,3-triphényl-1-thioxophthalimidine **103** ont conduit à un seul composé de type spiro[benzopyrolidine-1,2'-(2',3'-dihydro)-[1',3'4']-thiadiazoles] pentasubstitué **104** avec un rendement satisfaisant (schéma 47) [63].

[62]. E. M. Rakib, M. Benchidmi, E. M. Essassi, A. El Bouadili, M. Khouili, J. M. Barbe, M. D. Pujol. *Heterocycles* **2000**, 53, 571.

[63]. E. V. Budarina, N. N. Labeish, V. K. Bel'skii, V. A. Galishev *Russian J. Org. Chem.* **2005**, 41, 758



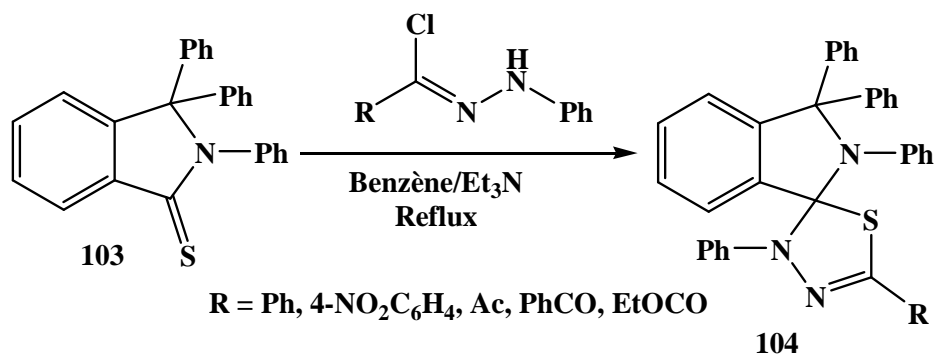


Schéma 47

En 2005, l'équipe de Rakib [64] a décrit la synthèse des spirothiadiazolopyridazines **106** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de pyridazin-3(2H)-thione **105** avec des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrile imines dans le tétrahydrofurane en présence de la triéthylamine. Seule la double liaison C=S est affectée. La réaction est péri- et régiosélective (schéma 48).

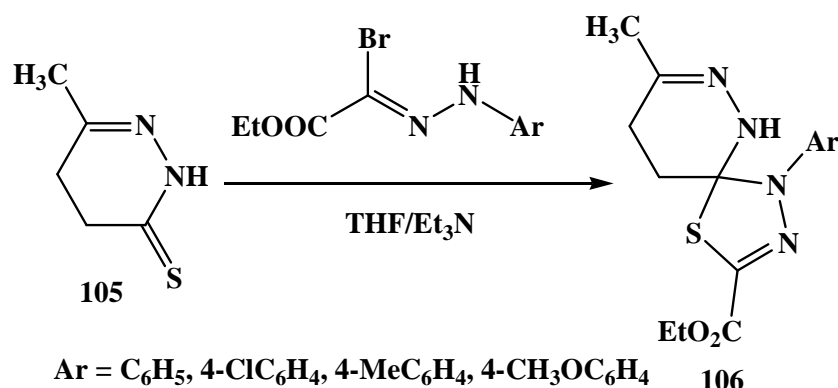


Schéma 48

L'addition des halogénures 2-oxoalkanehydrazonoyle à la 4-oxo-1,3-diphénylimidazole-2-thione **107** [65] dans le chloroforme en présence de la triéthylamine a conduit aux dérivés spiro[imidazole-2,2'-3*H*-1,3,4-thiadiazole] **108** avec des rendements allant de 70% à 75% (schéma 49). La réaction est péri- et régiosélective. Seule la double liaison C=S est affectée.

[64]. S. Abouricha, E. M. Rakib, N. Benchat, M. Alaoui, B. El Bali. *Syn. Commun.* **2005**, 35, 2213.

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

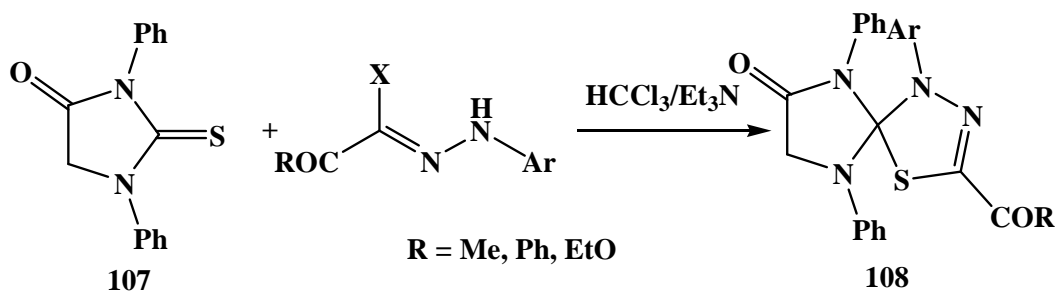


Schéma 49

Des résultats similaires [66] ont été observés lors de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de la 3-phényl-4-phénylméthylène-2-thioxothiazolin-5-one **109** avec différents nitrilimines régénérés in situ à partir de l'action de la triéthylamine sur les halogénures d'hydrazonoyle. Les spiro[3H-thiazole-2,2'-3H-thiadiazoles] **110** sont obtenus avec de bons rendements (schéma 50). Seule la double liaison thioxo est affectée. La réaction est régiosélective.

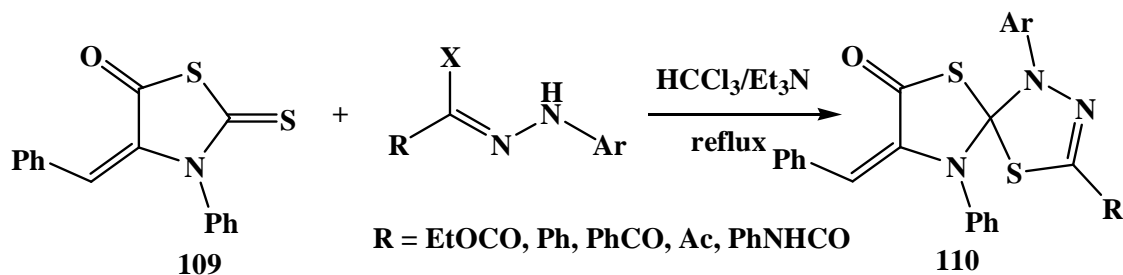


Schéma 50

Labeish et al. [67] ont étudié la réaction de 1,2-dithiophthalide **111** avec des nitrilimines régénérés in situ à partir des halogénures d'hydrazonoyle. Cette réaction a permis d'accéder aux spiro[3H-1,3,4-thiadiazole-2,2'-benzothiophenes] **112** avec d'excellents rendements (schéma 51).

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

[67]. N. N. Labeish, D. A. Oparin, V. K. Bel'skii, V. A. Galishev. *Russ. J. Org. Chem.* **1997**, 33, 381.

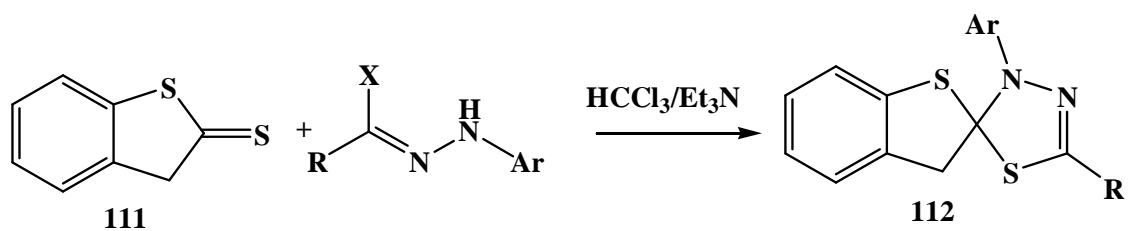


Schéma 51

### Conclusion

Ces données de la littérature montrent l'importance de l'halogénure d'hydrazonoyle en tant que précurseur pour la synthèse de divers systèmes hétérocycliques à propriétés pharmacologiques potentielles. Ce synthon permet d'accéder en une seule étape à la synthèse des systèmes hétérocycliques difficiles à préparer par d'autres voies de synthèse. C'est dans cet objectif que nous nous sommes intéressés à développer la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à caractère pharmacologique potentiel via le précurseur de l'halogénure d'hydrazonoyle dans les autres chapitres de ce mémoire.

## CHAPITRE II :

**Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2*H*)-  
one et de son homologue pyridazinethione avec  
les *N*-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines**

## **I- Mise au point sur la synthèse, la réactivité et l'activité biologique de la pyridazinone**

Les pyridazinones sont des composés organiques à six chaînons qui contiennent deux atomes d'azotes adjacents en position 1 et 2 du système hétérocyclique. Ces dernières années beaucoup de travaux de recherche ont été réalisés sur les dérivés de la pyridazinone. Ce précurseur est également connu en tant que « noyau de merveille » car il a donné beaucoup de composés avec diverses propriétés pharmacologiques [1-10] à savoir les activités antimicrobiennes [11-13], analgésiques [14-19], anti-inflammatoires [20-26], inhibitrices de la cyclo-oxygénase [27,28], antidiabétiques [29], antihypertensives [30-35], antiplaquettaires [36-38], anticancéreuses [39,40], antifongiques [13,41,42], anxiolytiques [43], antiallergiques [44,45], ...etc.

- 
- [1] S. A. Abubshait. *Molecules*, **2007**, 12, 25.
- [2] P. Coudert, E. Duroux, P. Bastide, J. Couquelet, P. Tronche. *J Pharm. Belg.*, **1991**, 46, 375.
- [3] G. Heinisch, H. Frank. *Prog. Med. Chem.*, **1990**, 27, 1.
- [4] S. G. Lee, J. J. Kim, D. H. Kweon, Y. J. Kang, S. D. Cho, S. K. Kim, Y. J. Yoon, *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 8, 1463.
- [5] S. A. Pahernik, J. Schmid, T. Sauter, F. W. Schildberg, H. G. Koebe, *Xenobiotica*. **1995**, 8, 811.
- [6] G. A. Pinna, F. Sardu, M. M. Curzu. *II Farmaco*, **1992**, 47, 449.
- [7] E. Sotelo, B. Pita, E. Ravina, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 2863.
- [8] K. Tsubaki, K. Taniguchi, S. Tabuchi, O. Okitsu, K. Hattori, J. Seki, K. Sakane, H. Tanaka, *Bioorg Med Chem Lett.*, **2000**, 10, 2787.
- [9] T. Wang, Y. Dong, L. C. Wang, Z. Chen, *Arzneimittelforschung*, **2007**, 57, 641.
- [10] A. A. Aly, A. A. F. Wasfy, *Chem. Pap.*, **2007**, 58, 126.
- [11] R. R. Kassab, *Egypt. J. Chem.*, **2002**, 45, 1055.
- [12] I. Mojahidul, A. S. Anees, R. Ramadoss. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **2008**, 65, 353.
- [13] G. H. Sayed, M. A. Sayed, M. R. Mahmoud, S. S. Shaaban, *Egypt. J. Chem.*, **2002**, 45, 767.
- [14] V. D. Piaz, M. P. Giovannoni, G. Ciciani, D. Barlocco, G. Giardina, G. Petrone, G. D. Clarke. *Eur. J. Med. Chem.*, **1996**, 31, 65.
- [15] M. P. Giovannoni, C. Vergelli, C. Ghelardini, N. Galeotti, A. Bartolini, V. D. Piaz. *J Med Chem.*, **2003**, 46, 1055.
- [16] M. Gokce, D. Dogruer,; F. Sahin. *II Farmaco*, **2001**, 56, 233.
- [17] D. S. Dogruer, M. F. fahin, S. Ünlü, S. Ito. *Arch. Pharm. Med. Chem*, **2000**, 333, 79.
- [18] C. Biancalani, M. P. Giovannoni, S. Pieretti, N. Cesari, A. Graziano, C. Vergelli, A. Cilibrizzi, A. DiGianuario, M. Colucci, G. Mangano, B. Garrone, L. Polenzani, V. Dal Piaz. *J Med Chem*. **2009**, 29.
- [19] S. Pieretti, V. Dal Piaz, R. Matucci, M. P. Giovannoni, A. Galli. *Life Sci*. **1999**, 65, 1381.
- [20] J. Hallas, J. Lauritsen, H. D. Villadsen, L. F. Gram. *Scand J Gastroenterol*, **1995**, 30, 438.
- [21] D. S. Dogruer, M. F. Sahin, E. Kupeli, E. Yesilada. *Turk. J. Chem.*, **2003**, 27, 727.
- [22] C. Flouzat, Y. Bresson, A. Mattio. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 497.
- [23] M. Gökçe, M. S. Colak, E. Küpeli, M. F. Sahin. *Arzneimittelforschung.*, **2009**, 59, 357.
- [24] J. B. Raskin. *Am J Med.*, **1999**, 106, 3S.
- [25] S. D. M. Deniz, S. Fethi. *Turk J Chem*, **2003**, 27, 727.
- [26] E. Banoglu, C. Akoglu, S. Unlu, E. Kupeli, E. Yesilada, M. F. Sahin. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **2004**, 337, 7.
- [27] B. Okcelik, S. Unlu, E. Banoglu, E. Kupeli, E. Yesilada, M. F. Sahin. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem*. **2003**, 336, 406.
- [28] V. K. Chintakunta, V. Akella, M. S. Vedula, P. K. Mamnoor, P. Mishra, S. R. Casturi, A. Vangoori, R. Rajagopalan. *Eur. J. Med.Chem.*, **2002**, 37, 339.
- [29] I. G. Rathish, K. Javed, S. Bano, S. Ahmad, M. S. Alam, K. K. Pillai. *Eur J Med Chem.*, **2009**, 44, 2673.
- [30] R. Barbaro, L.Betti, M. Botta, F. Corelli, G. Giannaccini, L. Maccari, F. Manetti, G. Strappaghetti, S. Corsano. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 2118.

Parmi les principaux dérivés de pyridazinone qui sont apparus sur le marché pharmaceutique nous citons :

- Les anti-hypertensives : indolidan [46], bemoradan [47], primobendan [48], levosimendan [49].
- Un antidépresseur: minaprine [50]
- Un anti-inflammatoire: emorfazone [41]
- Un cardiotonique: azanrinone [51]

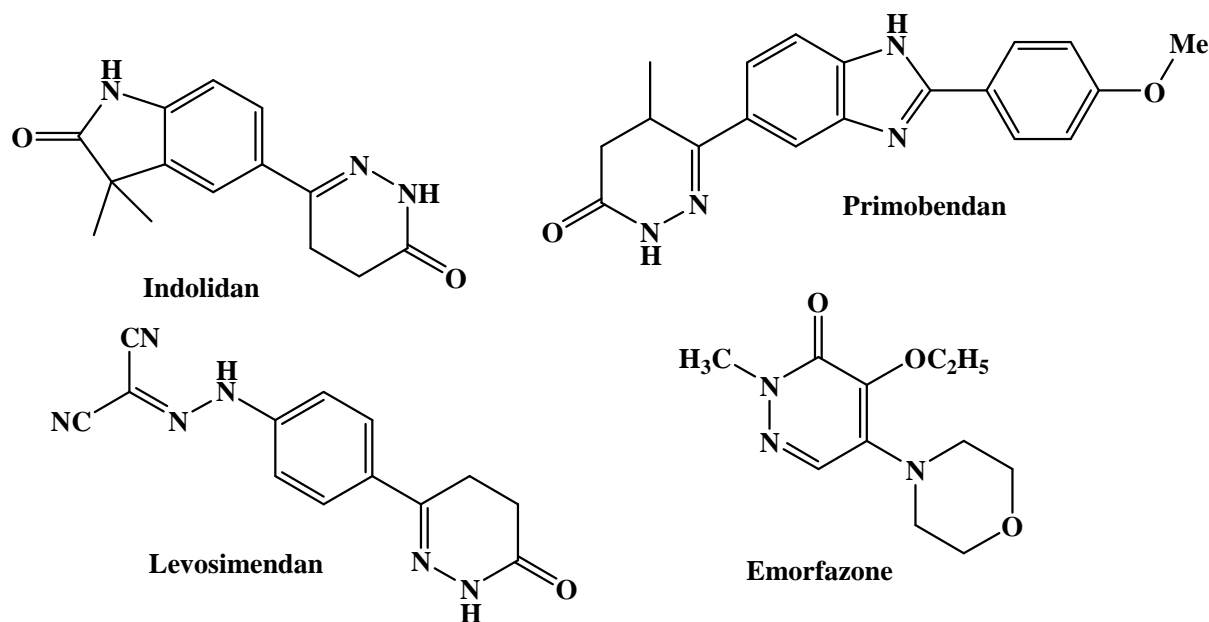


Figure 1 : Exemple de quelques dérivés de la pyridazinone apparus dans le marché pharmaceutique

- [31] T. Seki, T. Nakao, T. Masuda, K. Hasumi, K. Gotanda, T. Ishimori, S. Honma, N. Minami, K. Shibata, K. Yasuda. *Chem Pharm Bull*, **1996**, 44, 2061.
- [32] A. A. Siddiqui, A. Kushnoor, S. M. Wani. *Indian J of Chem. B*, **2004**, 43B, 1574.
- [33] R. Bansal, D. Kumar, R. Carron, C. de la Calle. *Eur J Med Chem.*, **2009**, 44, 4441.
- [34] P. D. Verdouw, J. M. Hartog, D. J. Duncker, W. Roth, P. R. Saxena. *Eur J Pharmacol.*, **1986**, 126, 21.
- [35] C. Korvald, D. O. Nordhaug, T. Steensrud, E. Aghajani, T. Myrmet. *Scand Cardiovasc J.*, **2002**, 36, 131.
- [36] S. C. Cherng, W. H. Huang, C. Y. Shiau, A. R. Lee, T. C. Chou. *Eur J Pharmacol.*, **2006**, 532, 32.
- [37] A. Coelho, E. Sotelo, N. Fraiz, M. Yanez, R. Laguna, E. Cano, E. Ravina. *Bioorg Med. Chem. Lett.*, **2004**, 4, 321.
- [38] E. Sotelo, N. Fraiz, M. Yanez, V. Terrades, R. Laguna, E. Cano, E. Ravina. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 2873.
- [39] F. B. Miguel, C. M. L. G. Monica, P. M. Elena, L. Berta, P. T. Beatriz de, R. Ana, A. Nuria, L. Francisco, M. M. Dolores, L. Olivier, M. Laurent. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 6843.
- [40] W. Malinka, A. Redzicka, O. Lozach. *Il Farmaco.*, **2004**, 59, 457.
- [41] A. A. Siddiqui, R. A. Syed, S. M. Mohammed, A. H. Syed, R. Mohammed, K. Ravindra. *Acta Poloniae Pharmaceutica.*, **2008**, 65, 223.
- [42] M. A. Anwair, L. Károlyházy, D. Szabó, B. Balogh, I. Kövesdi, V. Harmat, J. Krenyácz, A. Gellért, K. Takács-Novák, P. Mátyus. *J Agric Food Chem.*, **2003**, 51, 5262.
- [43] G. Griebel, G. Perrault, S. Tan, H. Schoemaker, D. J. Sanger. *Behav Pharmacol.*, **1999**, 10, 483-95.
- [44] H. Nagai, H. Suda, T. Iwama, M. Daikoku, Y. Yanagihara, A. Koda. *Int Arch Allergy Immunol.*, **1992**, 98, 57.
- [45] A. Yamamoto, T. Iwama, H. Takeda, H. Nagai. *Jpn J Pharmacol.*, **1995**, 68, 47.
- [46] K. Abouzid, M. A. Hakeem, O. Khalil, Y. Maklad. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 382.

En tenant compte des activités pharmacologiques importantes que présentent ces hétérocycles, plusieurs méthodes ont été utilisées pour la synthèse et l'étude de la réactivité des dérivés de la pyridazinone. Nous rapportons ci-dessous un certain nombre de travaux de recherche décrivant la synthèse et la réactivité des dérivés de la pyridazinone.

Abouzid et al. [52] ont synthétisé deux nouvelles séries de pyridazinone en se basant sur l'introduction d'un groupe aryle lié à la pyridazinone dans la position 6 par une chaîne éthylique ou éthylique (schéma 1). Ils ont montré que ces composés présentent une activité anti-inflammatoire très intéressante. Les résultats de criblage biologique ont révélé que deux composés présentent l'activité la plus élevée dans cette série avec une affinité de liaison très importante pour le site actif de la COX-2.

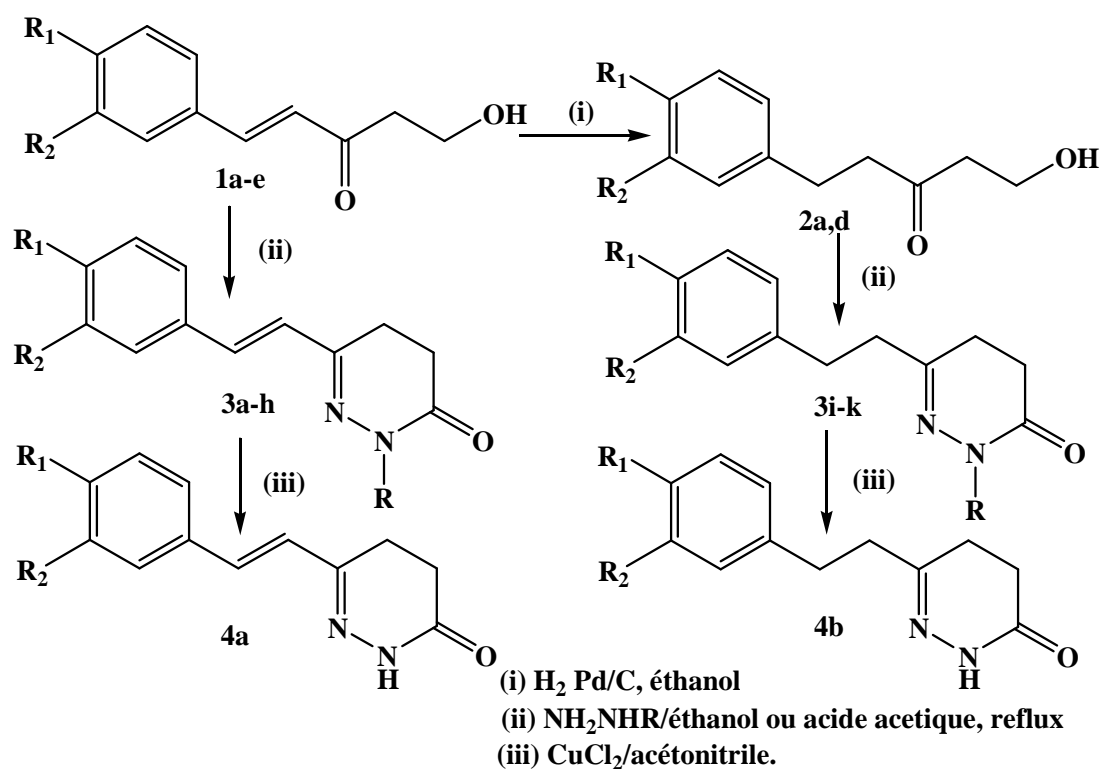
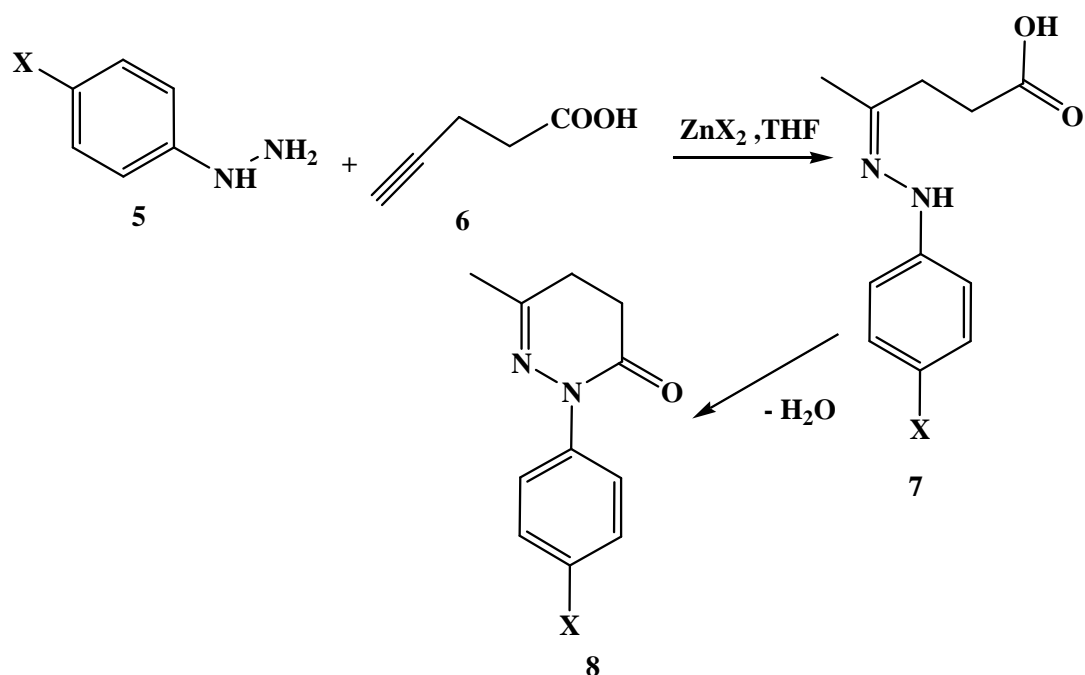


Schéma 1

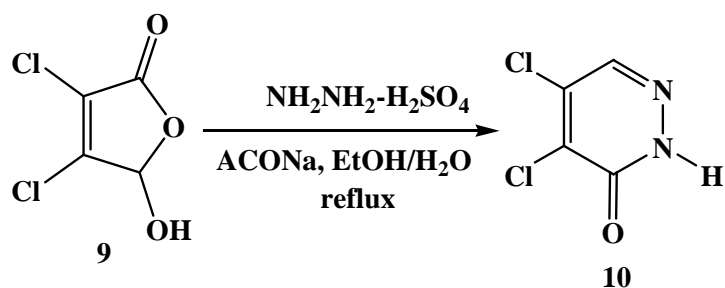
- [47] D.W. Combs, M. S. Rampulla, S. C. Bell, D. H. Klaubert, A. J. Tobia, R. Falotico, B. Haertlein, C. L. Weiss, J. B. Moore. *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 380.  
[48] D. W. Robertson, J. D. Leander, R. Lawson, E. E. Beedle, C. R. Clark, B. D. Potts, C. J. Parli. *J Med Chem.* **1987**, 30, 1742.  
[49] S. Archan, W. Toller. *Curr. Opin. Anesthesiol.*, **2008**, 21, 78.  
[50] E. Sotelo, A. Coelho, E. Ravina. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 4459.  
[51] A. A. Siddiqui; S. M. Wani. *J. Heterocycl. Chem.*, **2004**, 13 115-118.  
[52] K. Abouzid, S. A. Bekhit, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 5547.

En 2008, Alex et al. [53] ont développé en deux étapes la synthèse de nouveaux dérivés de la pyridazinone: la première consiste à synthétiser l'arylhyazone **7** à partir de la réaction de condensation de l'arylhyazone **5** avec l'acide-pent-4-ynoïque **6** dans le THF en présence d'un catalyseur de Lewis. La deuxième étape permet d'obtenir l'arylpyridazinone **8** avec un excellent rendement via une cyclisation intramoléculaire par une simple déshydratation de l'arylhyazone **7** (Schéma 2).



**Schéma 2**

En 2006, Liang Xin et al. [54] ont développé une méthode de synthèse de la 4,5-dichloro-3(2H) pyridazinone **10** basée sur la réaction de condensation de la 3,4-dichloro-5-hydroxyfuran-2-one **9** avec l'hydrazine hydratée à reflux de l'éthanol (schéma 3).



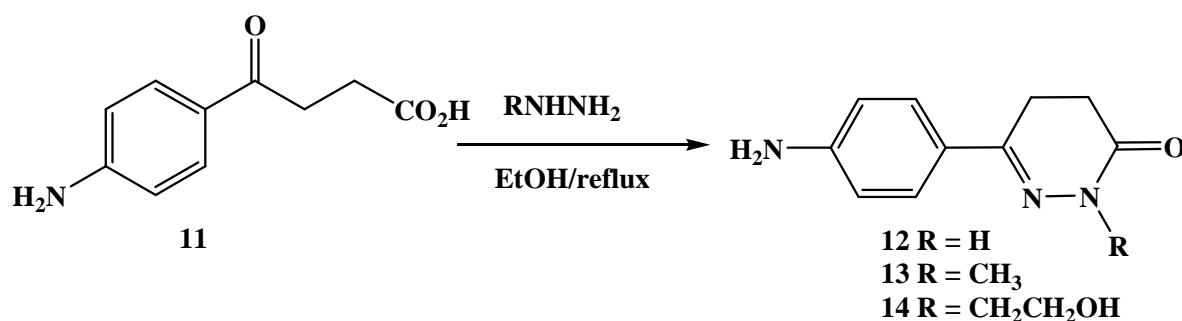
**Schéma 3**

[53]. K. Alex, A. Tillack, N. Schwarz, M. Beller, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 1, 2.

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



La réaction de l'acide 4-(4-aminophényl)-4-oxobutanoïque **11** avec l'hydrazine différemment substituées à reflux de l'éthanol conduit aux dérivés de la pyridazinone avec de bons rendements (schéma 4). Les auteurs [55] ont montré que ce type de composés est doué d'activités anti-hypertensives intéressantes.



**Schéma 4**

Dans une étude récente, Tiryaki et al. [56] ont développé la synthèse d'une nouvelle série de pyridazinone **17** à partir de la réaction de l'acide glyoxilique **16**, l'acétophénone **15** et l'hydrazine. L'alkylation de la pyridazinone **17** par le bromochloroéthane suivie du coulage par l'arylpépirazine a conduit aux 2-[2-(arylpépirazin-1-yl)éthyl]-6-phénylpyridazin-3(2H)-ones **18** qui ont montré des activités anti-inflammatoire et analgésique in vivo intéressantes (schéma 5).

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

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

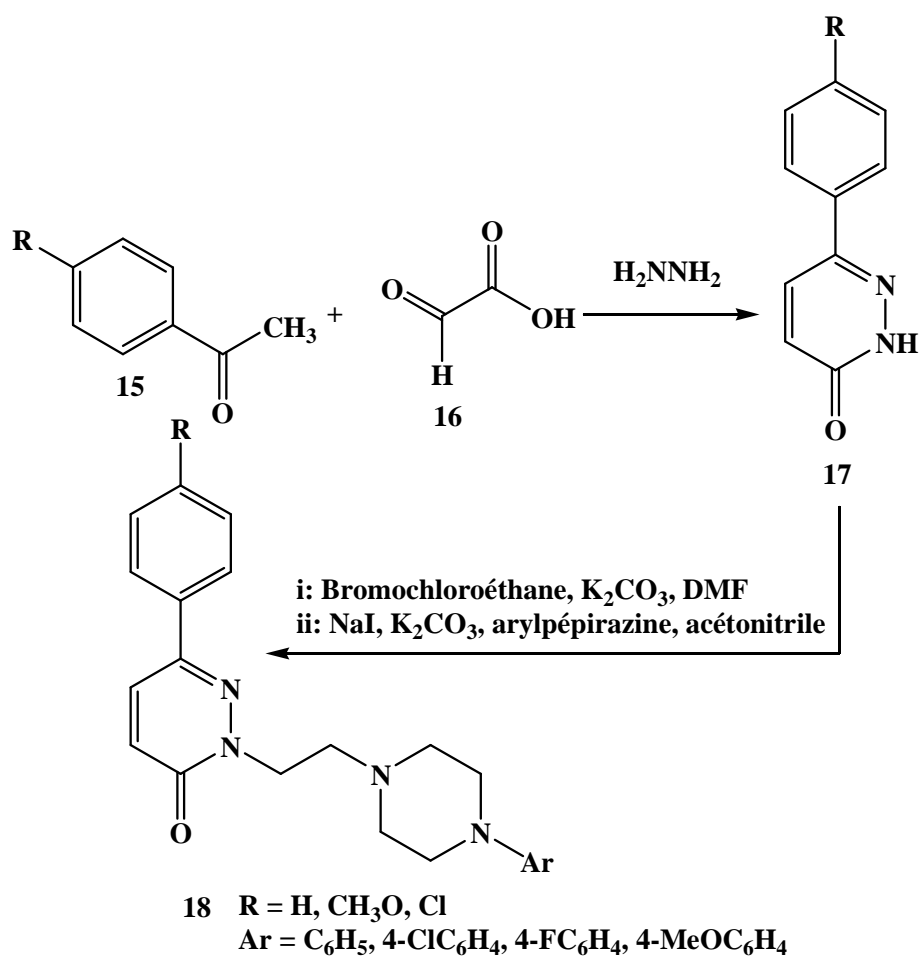


Schéma 5

Dans la même série des pyridazinones *N*-alkylés, Y. Pu et al. [57] ont préparé les dérivés **21** par la réaction de condensation des *N*-aryle hydrazines **19** avec des réactifs difonctionnels-1,4 **20** (Schéma 6).

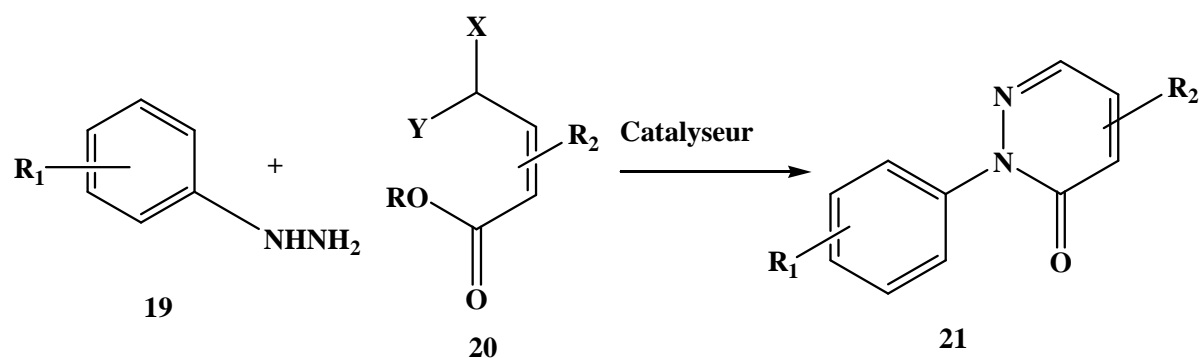


Schéma 6

[57]. Y-M. Pu, Y-Y Ku, T. Grieme, R. Henry, A V. Bhatia, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 149.

En 2006, Lee et al. [58] ont synthétisé les sels de 1,6-dihydro-5-hydroxy-6-oxo-3-(trifluorométhyl)-4-pyridazinecarboxylate **23** en une seule étape à partir de la réaction de condensation de 2-(alkylamino)-3-(trifluoroacétyl)butènedioates **22** avec différents alkyl- et aryle hydrazine dans l'éther (Schéma 7).

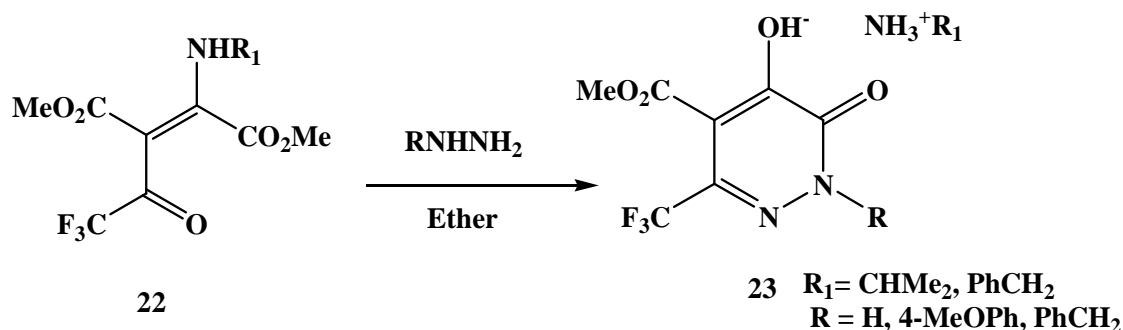


Schéma 7

D'autres dérivés de la pyridazinone **25** [59] ont été synthétisés à partir de la réaction de 5-(2-aryl-2-oxo-éthan-1-yl)-5-R Meldrum's **24** avec l'hydrazine dans le DMF à température ambiante (schéma 8). Cette méthode simple a permis d'obtenir les pyridazinones avec de bons rendements.

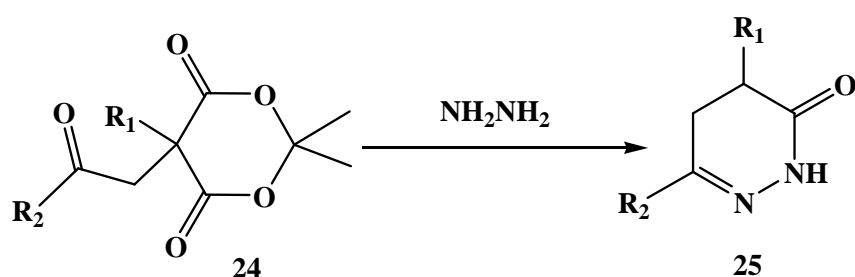


Schéma 8

Afin d'étudier la relation structure - activité biologique des dérivés de la pyridazinone, Husain et al. [60] ont développée une stratégie de synthèse pour accéder aux dérivés escomptés selon la méthode décrite dans le schéma 9. Cette dernière consiste à préparer premièrement les dérivés de furanone **29** puis les faire réagir avec l'hydrazine hydratée dans le n-propanol pour aboutir à des pyridazinones disubstituées en position 4 et 6 par des groupements aromatiques **30**.

[58]. S-G. Lee, J-J. Kim, H-K. Kim, D-H Kweon, Y-J. Kang, S-D. Cho, S-K Kim, Y-J Yoon, *Current Org. Chem.*, **2006**, 8, 1463.

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

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

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

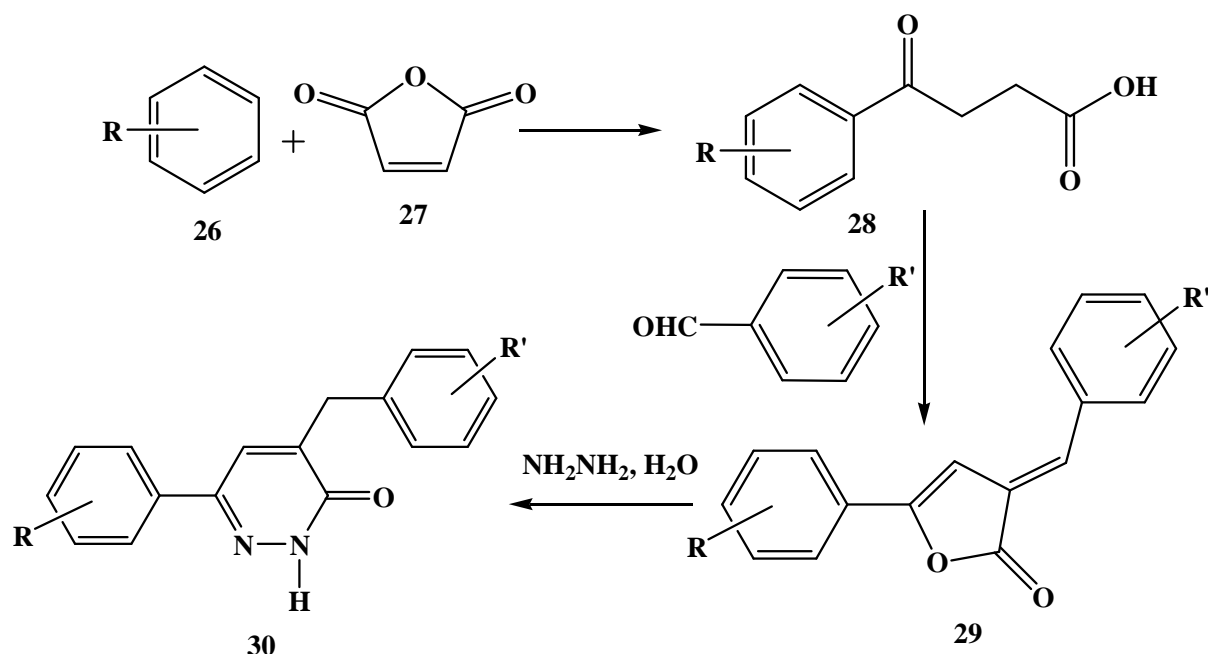


Schéma 9

Dans une étude récente [61], l'acide 4-oxo-4-arylbutoïque 28 a été utilisé comme précurseur de départ pour la synthèse en deux étapes des dérivés N-alkylés de la pyridazinone 32 et qui ont montré des activités anti-hypertensives importantes (schéma 10).

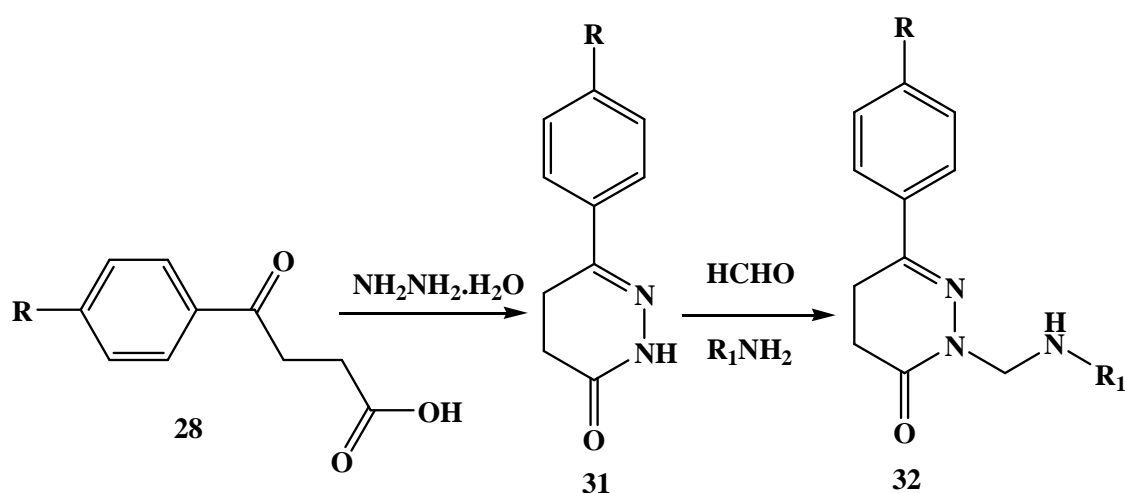


Schéma 10

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

Kuang [62] a décrit récemment une nouvelle série de pyridazinones substitués en différentes positions **37** selon la stratégie de synthèse mentionnée dans le schéma 11 et qui ont montré des activités antifongiques in vivo très intéressantes.

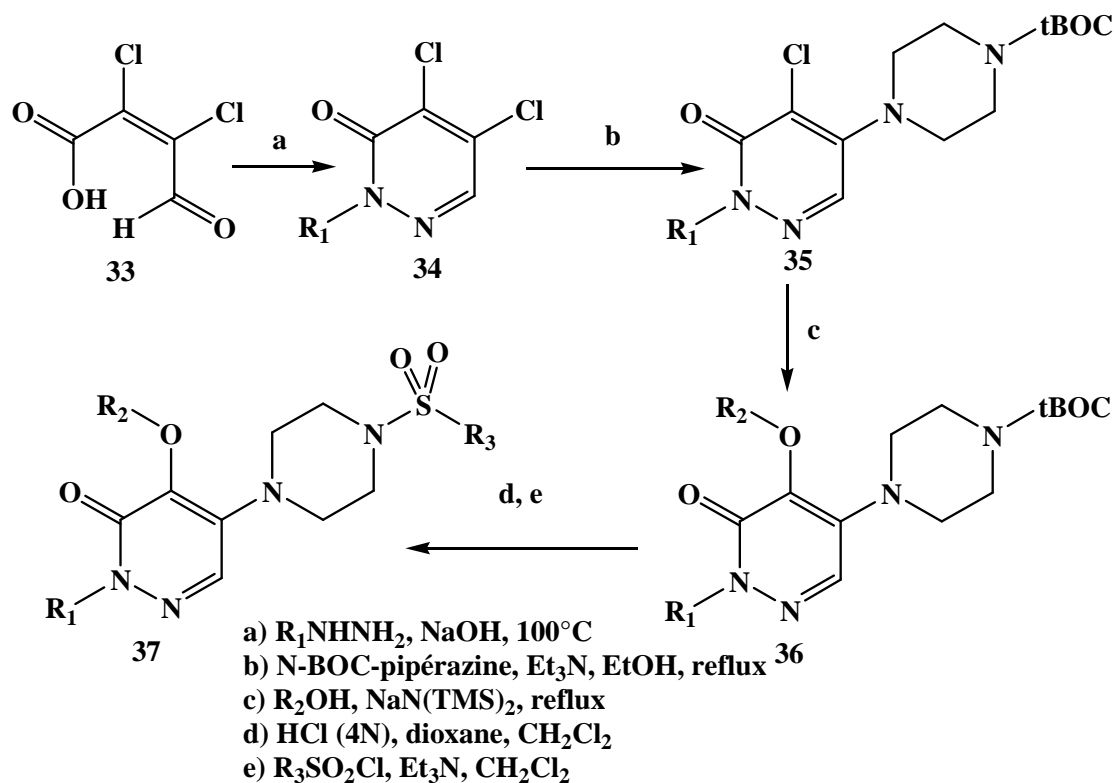


Schéma 11

Dans la série des pyridazinones condensés avec des hétérocycles à cinq chaînons, Piaz et coll. [63] ont préparé une nouvelle série des isoxazolo[3,4-d]pyridazinones en adoptant la séquence réactionnelle suivante (Schéma 12): La condensation de l'éthyl chlorooximidoacétate **38** avec différents réactifs difonctionnels 1,3 conduit aux isoxazoles **39**, qui réagissent par la suite avec l'hydrazine pour donner les isoxazolo[3,4-d]pyridazinones **40**. La présence des dérivés isoxazolopyridazinones dans certains produits a montré une activité inhibitrice de phosphodiesterase (PDE) intéressante.

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

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

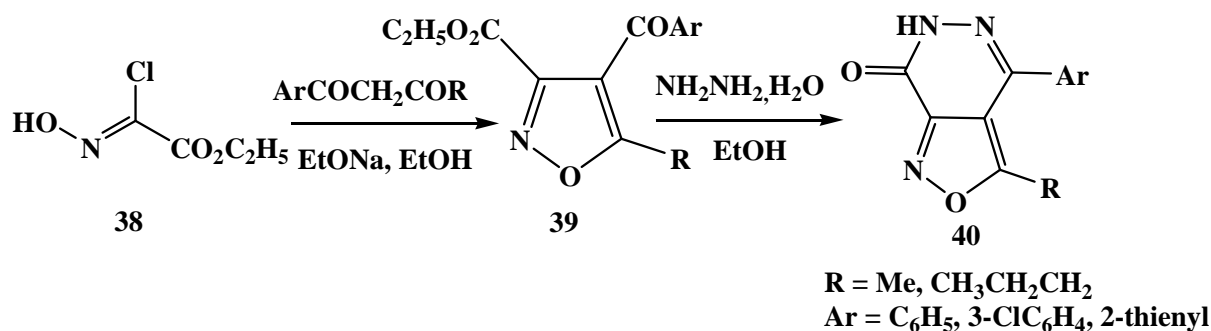


Schéma 12

Un autre dérivé de pyridazinone **42** condensé avec un hétérocycle à cinq chaînons a été synthétisé par Feixas et Giovannaoni [64] via la réaction de condensation de l'hydrazine avec l'éthyl 4-acétyl-5-méthylisoxasole-3-carboxylate **41** à reflux de l'éthanol (schéma 13).

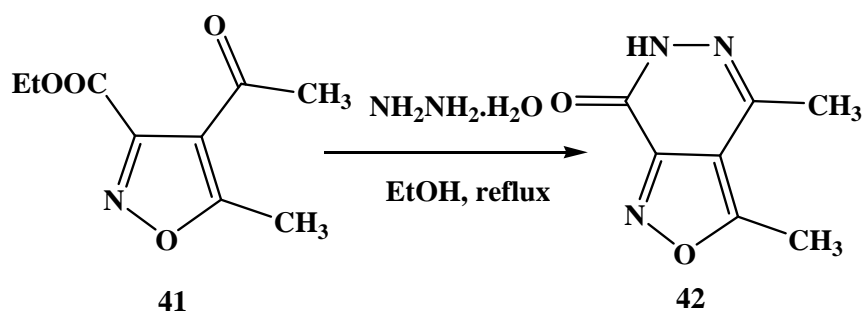


Schéma 13

En 2007, Anwar et coll. [65] ont décrit la synthèse des pyridazino[1,6-a]quinazolines **44** à partir de la condensation des 2-oxobutanal-1-arylhyazones **43** avec le benzylidene malononitrile et l'éthyl arylidenecyanoacetate (schéma 14).

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

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

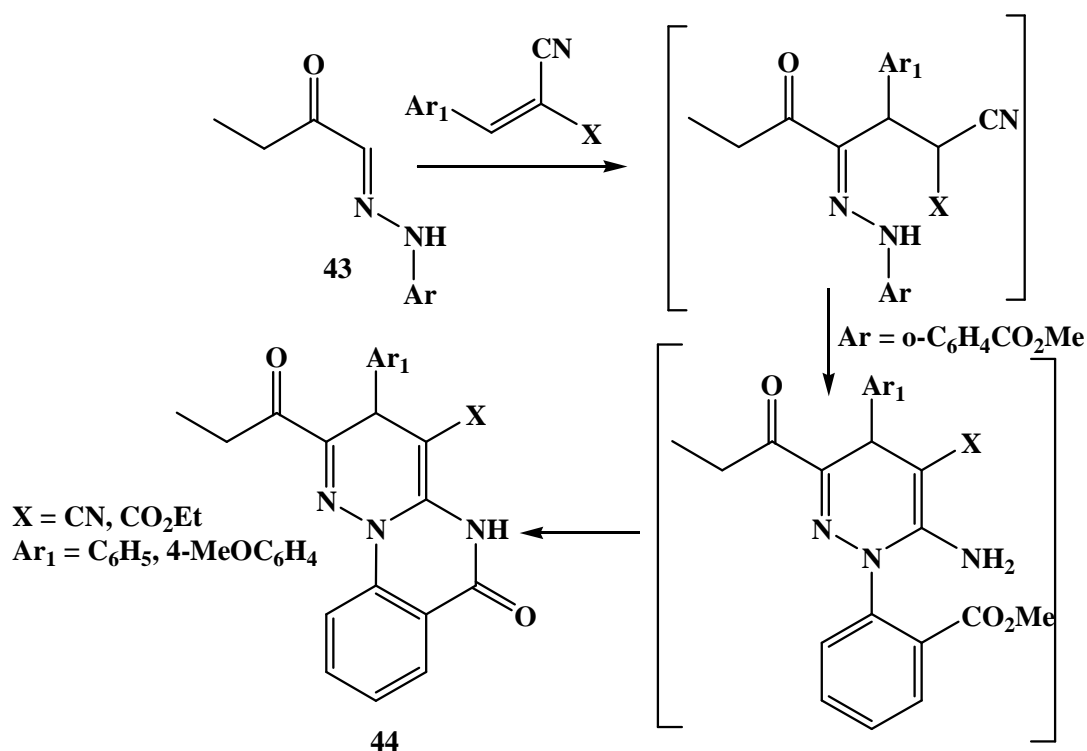


Schéma 14

Redzicka [66] s'est intéressé particulièrement à la synthèse des pyrrolo[3,4-d]pyridazinones utilisés comme agent analgésique. Ces produits ont été préparés à partir de l'acide anhydride 1-phénylpyrrole-3,4-dicarboxylique selon la séquence réactionnelle décrite dans le schéma 15.

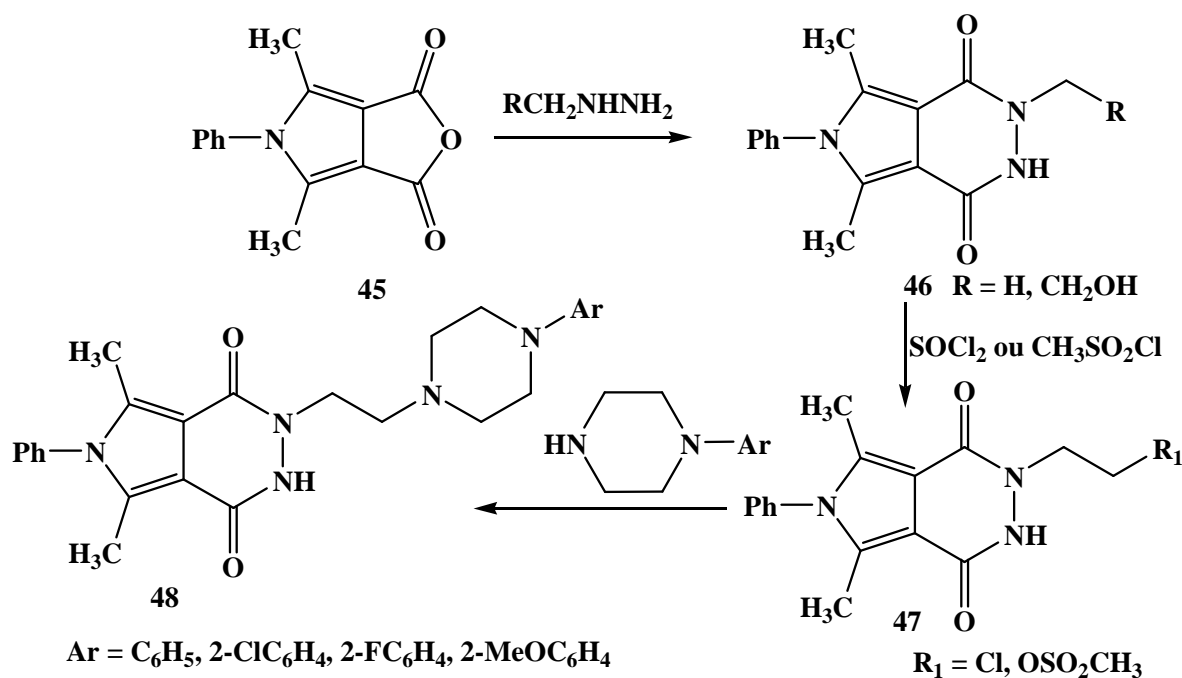


Schéma 15

En 2010, Giovannoni et coll. [67] ont décrit la synthèse de nouveaux pyrazolo[3,4-*d*]pyridazinones à partir de la réaction des pyrazoles fonctionnalisés avec l'hydrazine à reflux de l'éthanol et qui ont montré une activité inhibitrice de phosphodiesterase (PDE) intéressante (schéma 16).

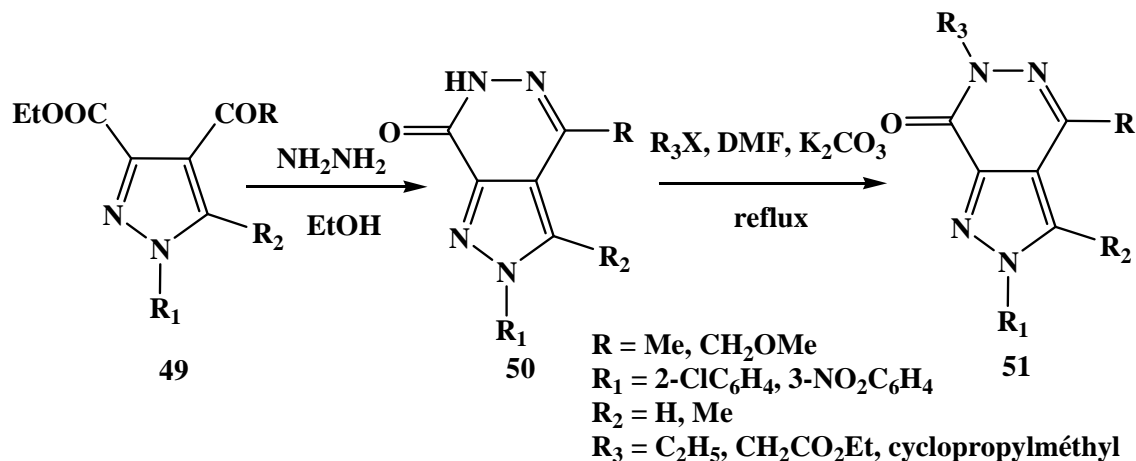


Schéma 16

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

En effet, l'intérêt présenté par les hétérocycles dont le motif principal est la pyridazinone justifie la poursuite des efforts dans le développement de nouvelles stratégies de synthèses et de fonctionnalisation des différents sites de ce motif.

Dans le cadre de l'étude de la réactivité des dérivés de la pyridazinone, nous examinerons dans ce chapitre leurs réactivités vis à vis des dipôles-1,3 de type *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines. Nous étudierons éventuellement la régiosélectivité et la périselectivité de la réaction du fait que la pyridazin-3(2*H*)-one **54** et son homologue thione **55** possèdent des sites dipolarophiles potentiels: les doubles liaisons, carbone-azote, carbone-oxygène et carbone-soufre (figure 2). Les molécules synthétisées seront testées pour évaluer leurs propriétés anticancéreuses.

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

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



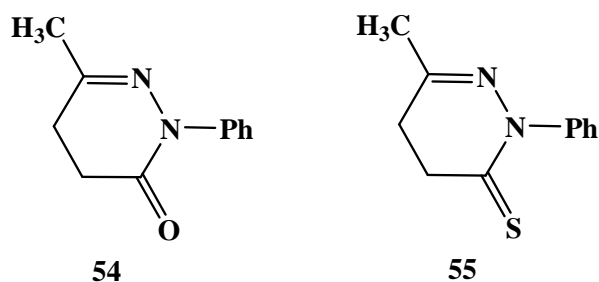


Figure 2 : la pyridazinone **54** et la pyridazinethione **55**

## II- Synthèse des pyridazinones et pyridazinethiones

### II-1 Synthèse de pyridazin-3(2H)-one

La pyridazinone **54** est préparée selon le mode opératoire décrit par Lespagnol et al. [68]. La réaction de condensation de l'acide lévunilique **52** avec phénylhydrazine **53** à reflux de l'éthanol conduit au pyridazin-3(2H)-one **54** avec un bon rendement (Schéma 17).

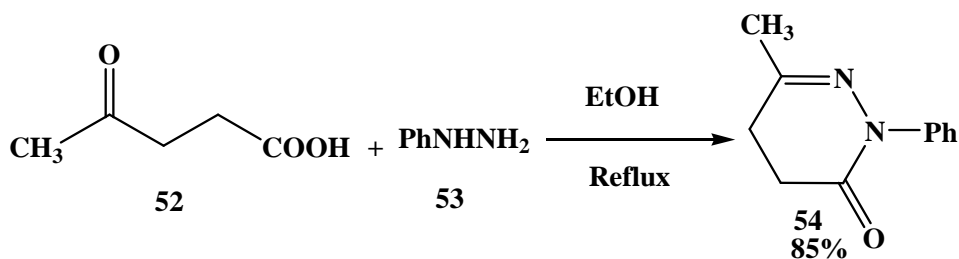


Schéma 17

Le composé **54** est caractérisé par les données spectrales RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ . Le spectre RMN  $^1\text{H}$  montre, un multiplet à 7.28-7.50 ppm correspondant aux protons aromatiques, un multiplet vers 2.62 ppm dû aux protons du groupe méthylène et un signal à 2.14 ppm dû aux protons du groupe méthyle.

Outre l'analyse spectroscopique RMN, une étude de diffraction aux rayons-X a confirmé la structure du composé **54** (figure 3).

[68]. A. Lespagnol, J. Deprey, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1962**, 1117.

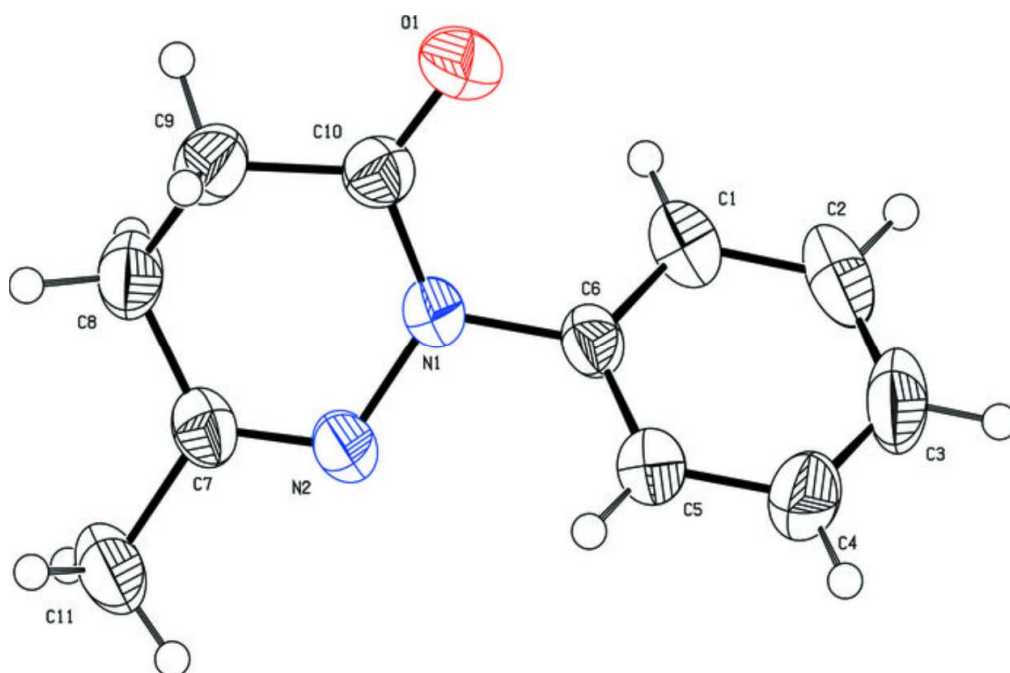


Figure 3: ORTEP du composé 4,5-dihydro-6-méthyl-2-phénylpyridazin-3(2H)-one **54**

Nous présentons dans le tableau ci-dessous les données cristallographiques du produit **54**.

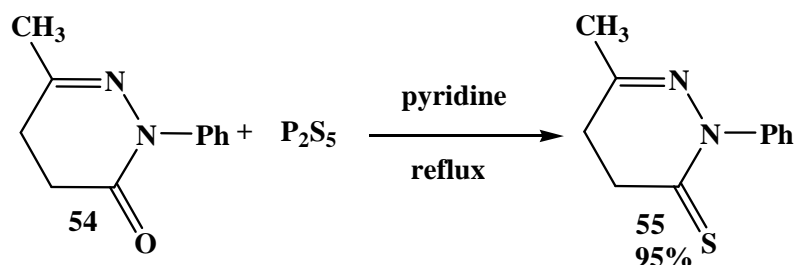
Tableau 1: Données cristallographiques du composé **54**

Crystal data	$C_{11}H_{12}N_2O$	$F(000) = 200$
	$Mr = 188.23$	$D_x = 1.263 \text{ Mg m}^{-3}$
	Monoclinic, $P21$	Melting point: 397 K
	Hall symbol: $P\ 2yb$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
	$a = 6.4151 (2) \text{ \AA}$	Cell parameters from 256 reflections
	$b = 7.9010 (2) \text{ \AA}$	$\theta = 2.4\text{--}26.5^\circ$
	$c = 10.1888 (3) \text{ \AA}$	$\mu = 0.08 \text{ mm}^{-1}$
	$\beta = 106.607 (1)^\circ$	$T = 296 \text{ K}$
	$V = 494.89 (2) \text{ \AA}^3$	Prism, colourless
	$Z = 2$	$0.24 \times 0.15 \times 0.12 \text{ mm}$
Data collection	Bruker APEXII CCD detector	
	diffractometer	1154 reflections with $I > 2\sigma(I)$
	Radiation source: fine-focus sealed tube	$R_{\text{int}} = 0.031$
	graphite	$\theta_{\text{max}} = 27.5^\circ$ , $\theta_{\text{min}} = 2.1^\circ$
	$\omega$ and $\phi$ scans	$h = -8 \rightarrow 7$
	7678 measured reflections	$k = -8 \rightarrow 10$
	1220 independent reflections	$l = -12 \rightarrow 13$

Refinement	Refinement on $F^2$	Secondary atom site location: difference Fourier map
	Least-squares matrix: full	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
	$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.032$	H-atom parameters constrained
	$wR(F^2) = 0.094$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0582P)^2 + 0.0443P]$
	$S = 1.06$	where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
	1220 reflections	$(\Delta/\sigma)_{\max} < 0.001$
	129 parameters	$\Delta\rho_{\max} = 0.15 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$
	1 restraint	$\Delta\rho_{\min} = -0.13 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$
		Extinction correction: <i>SHELXL</i> , $F_c^* = kFc[1 + 0.001xFc^2\lambda^3/\sin(2\theta)]^{-1/4}$

## II-2 Synthèse de la pyridazin-3(2H)-thione

Pour étudier l'effet du comportement de la fonction thiolactame de la pyridazine vis-à-vis des dipôles 1,3 et examiner l'effet de l'insertion d'un atome de soufre sur l'activité biologique, nous avons préparé la pyridazin-3(2H)-thione **55** à partir de la réaction de sulfuration de leur homologue **54** par le pentasulfure de phosphore en présence de la pyridine (schéma 18).



**Schéma 18**

La structure du composé **55** est identifiée sur la base des données spectrales RMN  $^1H$  et RMN  $^{13}C$ .

Le spectre RMN  $^{13}C$  du composé **55** présente en particulier un signal à 202 ppm caractéristique du carbone de la fonction thioxo C=S.

## III- Synthèse des N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines

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

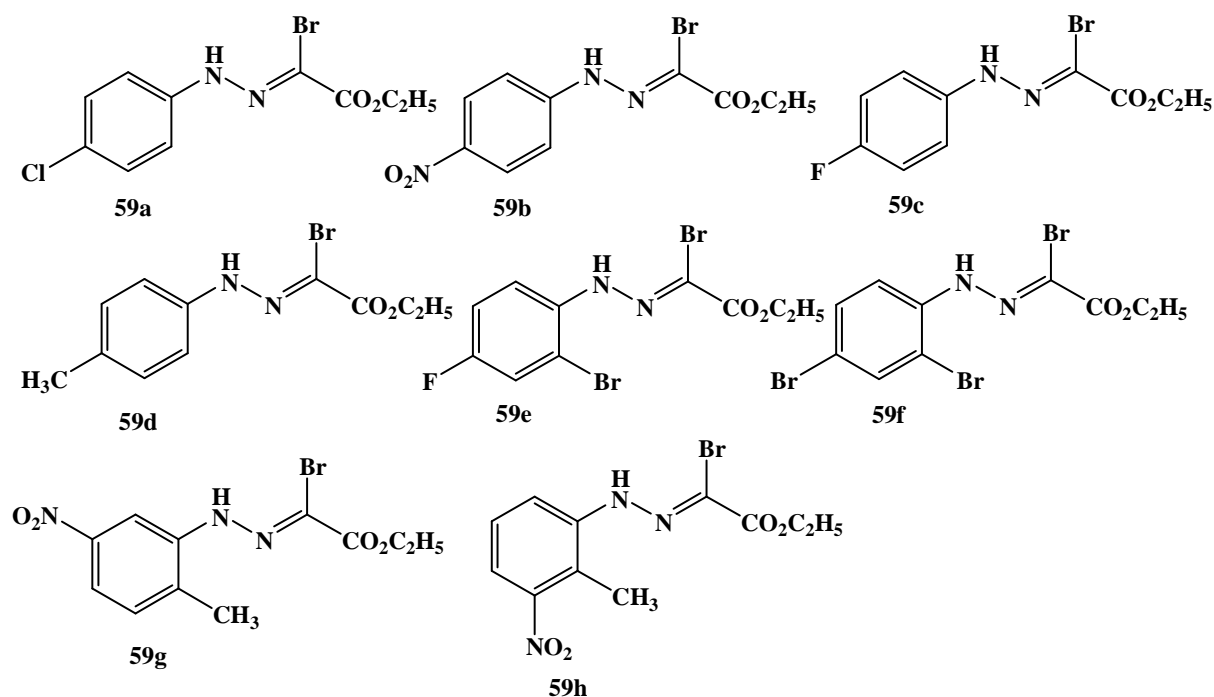


Figure 4 : Structures des halogénures d'hydrazonoyle **59a-h**

La méthode que nous avons utilisée pour préparer les *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines **59a-h** est celle de Hamilton [69]. C'est une méthode simple qui donne de bons rendements par rapport aux autres méthodes décrites par Bowack [70] et Huisgen [71].

Cette méthode consiste à préparer ces composés à partir des sels de diazonium de l'aniline **56a-h** substituée en différentes positions par des groupements donneurs ou attracteurs d'électrons (X = Cl, F, NO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>) et de l'acétylacétate d'éthyle **57**, en présence d'une base telle que l'acétate de sodium à température ambiante. L'hydrazone **58a-h** obtenue est ensuite traitée par le brome en présence d'acétate de sodium dans l'acide acétique pour obtenir les *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines **59a-h** (schéma 19).

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

[70]. D. A. Bowack, A. Lapwerth. *J. Chem. Soc.* **1905**, 87, 1859.

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

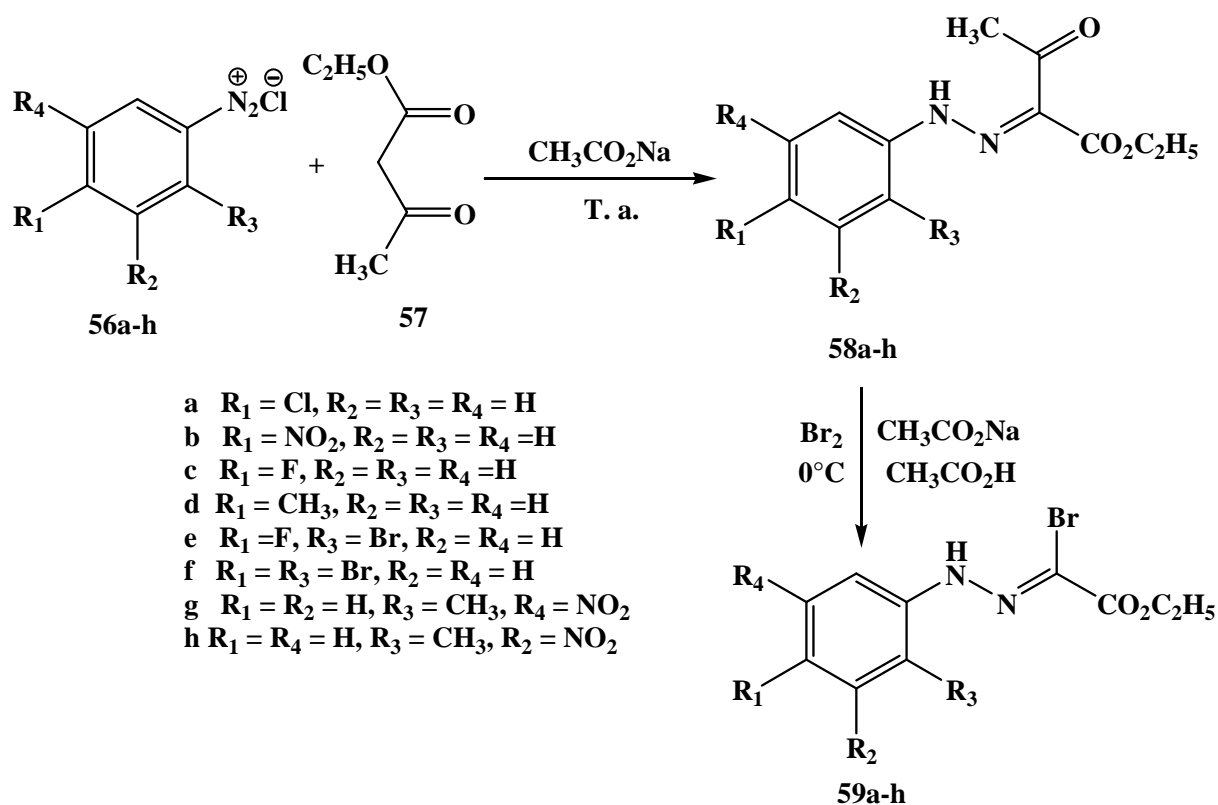


Schéma 19

Les caractéristiques physico-chimiques de quelques dipôles sont analogues à celles décrites par Sharp et Hamilton (tableaux 2 et 3). D'autres dipôles sont identifiés, en plus des caractéristiques physicochimiques, par les données spectroscopiques de la RMN<sup>1</sup>H et RMN<sup>13</sup>C.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des hydrazones 58a-h :

Composés	PF (°C)	Rdt %	Aspect
<b>58 a</b>	82-84	82	Cristaux jaunes
<b>58 b</b>	125-127	90	Aiguilles jaunes
<b>58 c</b>	81-83	83	Cristaux jaunes
<b>58 d</b>	78-80	81	Cristaux jaunes
<b>58 e</b>	88-90	70	Cristaux jaunes
<b>58 f</b>	108-110	92	Cristaux jaunes
<b>58 g</b>	144-146	85	Cristaux jaunes
<b>58 h</b>	84-86	70	Poudre brune

**Tableau 3:** Caractéristiques physico-chimiques des N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines 59a-h:

Composés	PF (°C)	Rdt%	Aspect
59 a	130-132	60	Cristaux jaunes
59 b	204-206	65	Cristaux jaunes
59 c	87-89	62	Cristaux jaunes pale
59 d	98-100	56	Cristaux jaunes
59 e	96-98	56	Cristaux jaunes
59 f	120-122	72	Aiguille jaunes
59 g	150-152	68	Cristaux jaunes
59 h	112-114	50	Poudre brune

#### IV- Préparation de l'oxyde de mésitonitrile :

Les oxydes de nitrile constituent une classe de dipôle-1,3 particulièrement réactifs, ils peuvent réagir aisément avec des liaisons multiples : carbone-carbone, carbone-azote, carbone-soufre et carbone-oxygène.

La plupart des oxydes de nitrile sont préparés « in situ » par halogénéation des oximes et traitement avec une base telle que la triéthylamine.

L'oxyde de mésitonitrile **62** préparé est stable [72]. Il est obtenu à partir de l'oxime de mésitaldéhyde **61** et du brome en présence d'une solution concentrée de soude dans le tétrachlorure de carbone comme solvant de réaction à température ambiante (schéma 20).

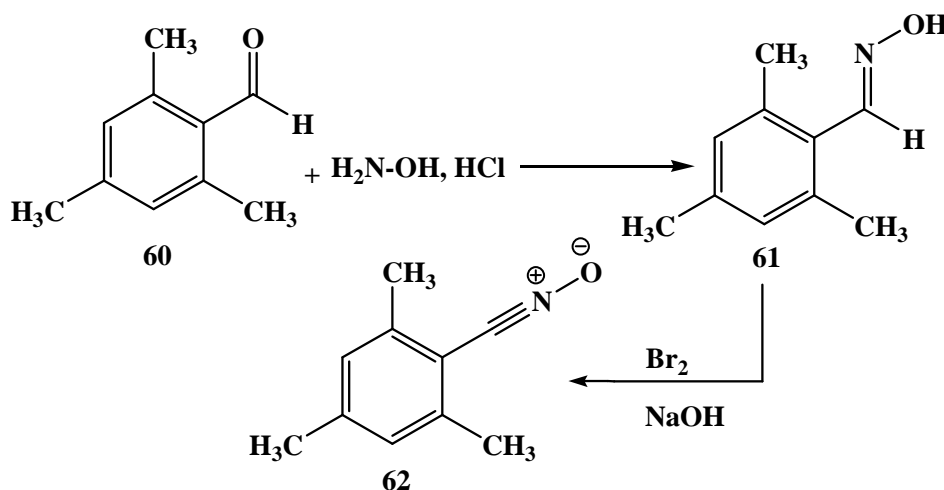


Schéma 20

[72]. C. Grundmann, J. M. Dean., *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 2809.

Les caractéristiques physico-chimiques du composé **62** sont conformes à celles décrites dans la littérature [72].

## V-Cycloaddition dipolaire-1,3 des pyridazinones et pyridazinthiones

### V-1- Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2H)-one

La réaction des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines **59b,d,f** avec la pyridazine-3(2H)-one **54**, en quantité stœchiométrique, en présence de carbonate de sodium à reflux du tétrahydrofur anhydre conduit d'une façon reproductible et dans des proportions non équivalentes à deux cycloadduits isomères inséparables de type triazolopyridazinones **63** et **64**. Dans le cas du dipôle **59f**, seul le cycloadduit **63f** a été identifié. Aucun adduit, issu d'une condensation sur la double liaison C=O n'a été identifié. La réaction est péri-sélective et non régiosélective.

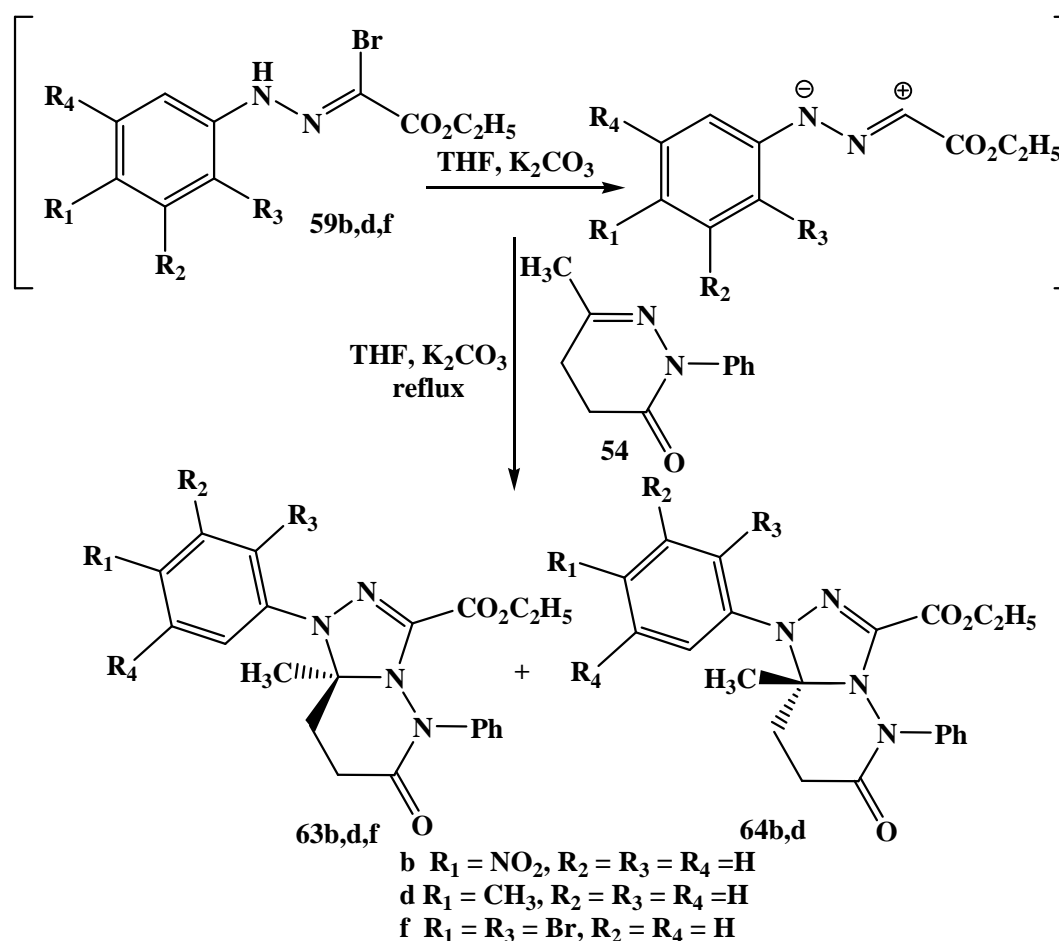


Schéma 21

Les structures des triazolopyridazinones **63** et **64** ont été identifiées par les analyses spectrales RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et DEPT.

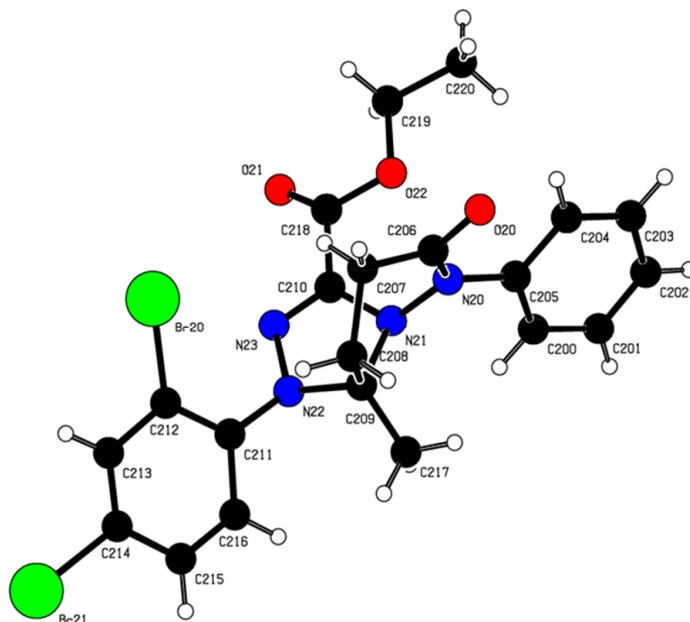
Dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  des cycloadduits, on observe en particulier un signal à 87.5-91.7 ppm dû au carbone C-8a et un signal à 172.3-175.9 ppm attribué à la double liaison de carbonyle C=O liée à l'amide. Ceci confirme bien que l'addition du dipôle est effectuée sur la double liaison carbone-azote.

Les proportions des deux isomères **63** et **64** sont calculées à partir de l'analyse du spectre RMN $^1\text{H}$  du mélange (tableau 4).

**Tableau 4** : Cycloaddition dipolaire 1,3 de de la pyridazinone **54** avec les dipôles **59b,d,f**

	PF °C	Rendement <b>63+64</b>	Proportion <b>63/64</b>
<b>b</b> R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = H	201-203	59%	70/30
<b>d</b> R <sub>1</sub> = CH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = R <sub>4</sub> = H	118-120	66%	65/35
<b>f</b> R <sub>1</sub> = R <sub>3</sub> = Br, R <sub>2</sub> = R <sub>4</sub> = H	123-125	53%	100/00

Outre l'analyse spectroscopique de la RMN, la structure du cycloadduit **63f** a été confirmée par l'analyse cristallographique qui démontre l'addition du dipôle sur la double liaison C=N (figure 5).



**Figure 5**: ORTEP de la structure du Cycloadduit **63f**



Nous présentons dans le tableau ci-dessous les données cristallographiques du produit **63f**.

**Tableau 5:** Données cristallographiques du composé **63f**

Crystal data	$C_{21}H_{20}Br_2N_4O_3$ Mr = 536.23 a = 7.6729 (3) Å b = 10.8854 (5) Å c = 13.9688 (6) Å $\alpha = 108.893 (2)^\circ$ $\beta = 103.255 (2)^\circ$ $\gamma = 93.978 (2)^\circ$	V = 1061.30 (8) Å <sup>3</sup> Z = 2 F(000) = 536 D <sub>x</sub> = 1.678 Mg m <sup>-3</sup> Mo K $\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073$ Å $\mu = 3.85$ mm <sup>-1</sup> T = 296 K
Data collection	Radiation source: fine-focus sealed tube Graphite monochromator 19598 measured reflections 7298 independent reflections 5578 reflections with I > 2 $\sigma$ (I)	R <sub>int</sub> = 0.032 $\theta_{max} = 25.9^\circ$ , $\theta_{min} = 1.6^\circ$ h = -9→7 k = -13→13 l = -17→17
Refinement	Refinement on F <sup>2</sup> Least-squares matrix: full R[F <sup>2</sup> > 2 $\sigma$ (F <sup>2</sup> )] = 0.035 wR(F <sup>2</sup> ) = 0.115 S = 1.07 7298 reflections 545 parameters 3 restraints	Primary atom site location: structure-invariant direct methods Secondary atom site location: difference Fourier map Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0575P)^2 + 0.6424P]$ where P = (F <sub>o</sub> <sup>2</sup> + 2F <sub>c</sub> <sup>2</sup> )/3 ( $\Delta/\sigma$ ) <sub>max</sub> = 1.216 $\Delta\rho_{max} = 0.71$ e Å <sup>-3</sup> $\Delta\rho_{min} = -0.67$ e Å <sup>-3</sup> Absolute structure: Flack H D (1983), Acta Cryst. A39, 876-881 Absolute structure parameter: 0.00

Notre résultat est identique à celui obtenu par Molteni et coll. [73] lors de la condensation de N-aryl-C-méthoxycarbonylnitrilimine **65** avec la 1,4-benzodiazépin-6-one **66** en présence d'une base dans le chloroforme. Ils obtiennent un mélange de deux isomères de type [1,2,4]triazolo-[4,3-a][1,4]benzodiazépines **67** et **68** (schéma 22).

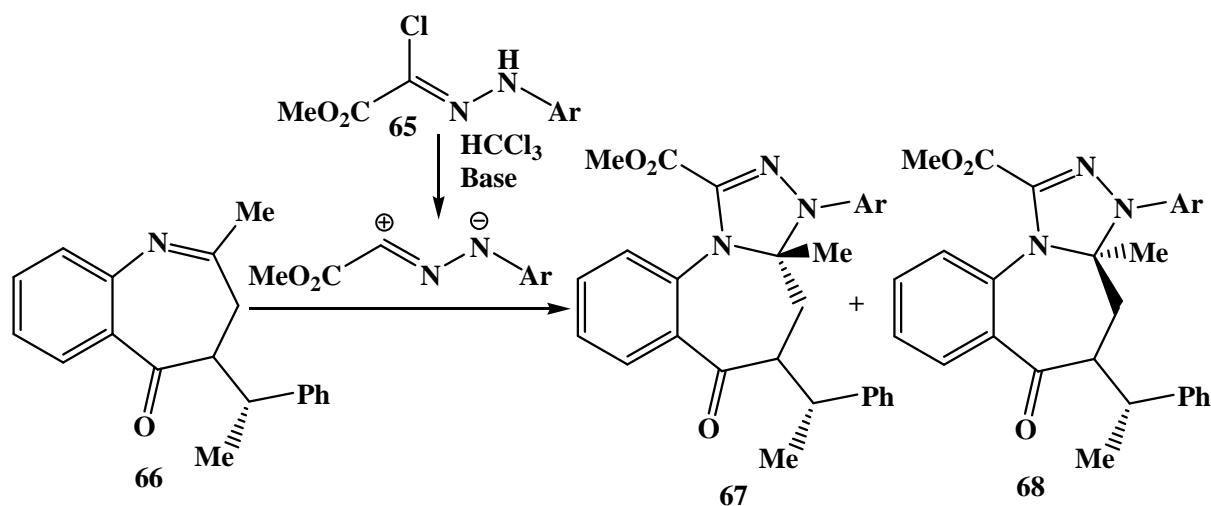


Schéma 22

### V-2- Cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2H)-thione

La condensation mole à mole de la pyridazin-3(2H)-thione **55** avec les N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines **59a-d** à reflux de tétrahydrofurane, en présence de la triéthylamine, pendant des temps variés, conduit à un seul produit de type spirothiadiazolopyridazines **69a-d** résultant d'une addition des dipôles-1,3 sur la double liaison exocyclique thioxo (schéma 23). Aucun adduit, issu d'une condensation sur le site dipolarophile carbone-azote n'a été observé. La réaction est exclusivement péri- et régiosélective.

[73]. G. Molteni, G. Brogini, T. Pilati. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 2491–2495.

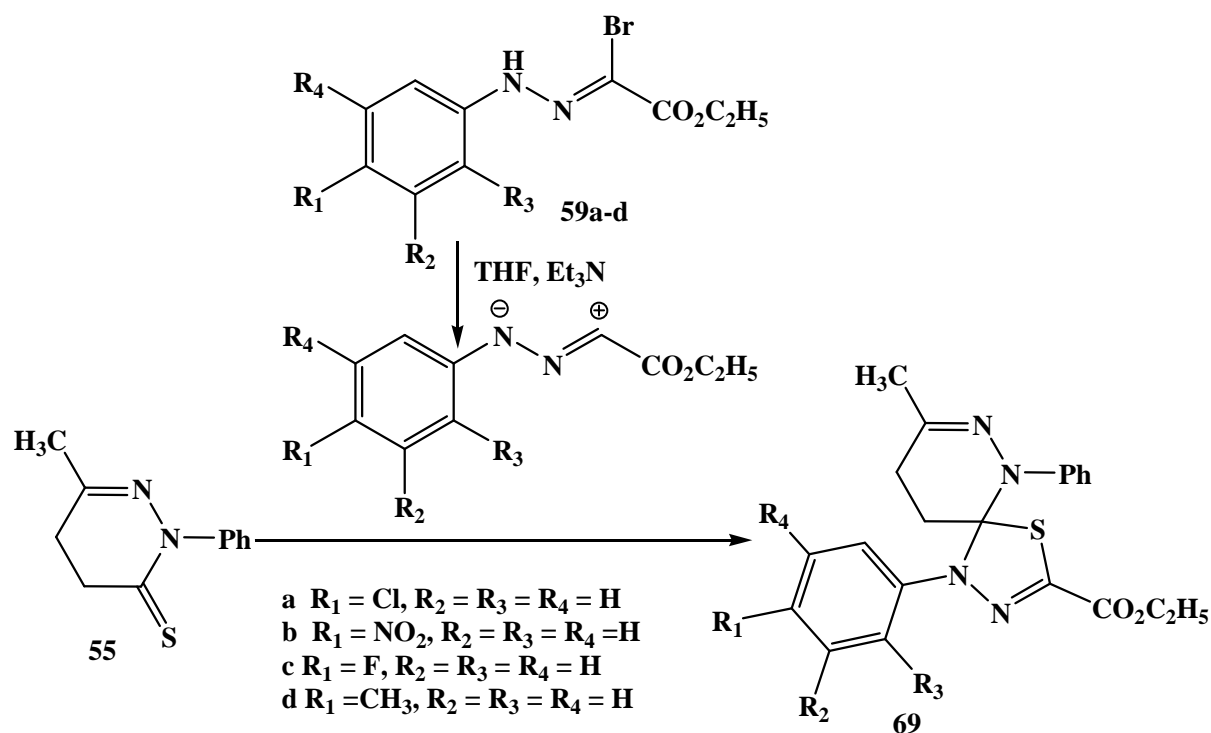


Schéma 23

Les structures des spirothiadiazolopyridazines **69a-d** ont été caractérisées par les analyses spectrales RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ .

Dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  des cycloadduits, on observe en particulier un signal à 88.2-100.8 ppm dû au carbone quaternaire de la jonction C-3, qui confirme bien que l'addition du dipôle est effectuée sur la double liaison carbone-soufre. La réaction est régiosélective car le sens d'addition est unique.

Dans la figure ci-dessous, nous présentons un exemple de spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  du cycloadduit **69c**.

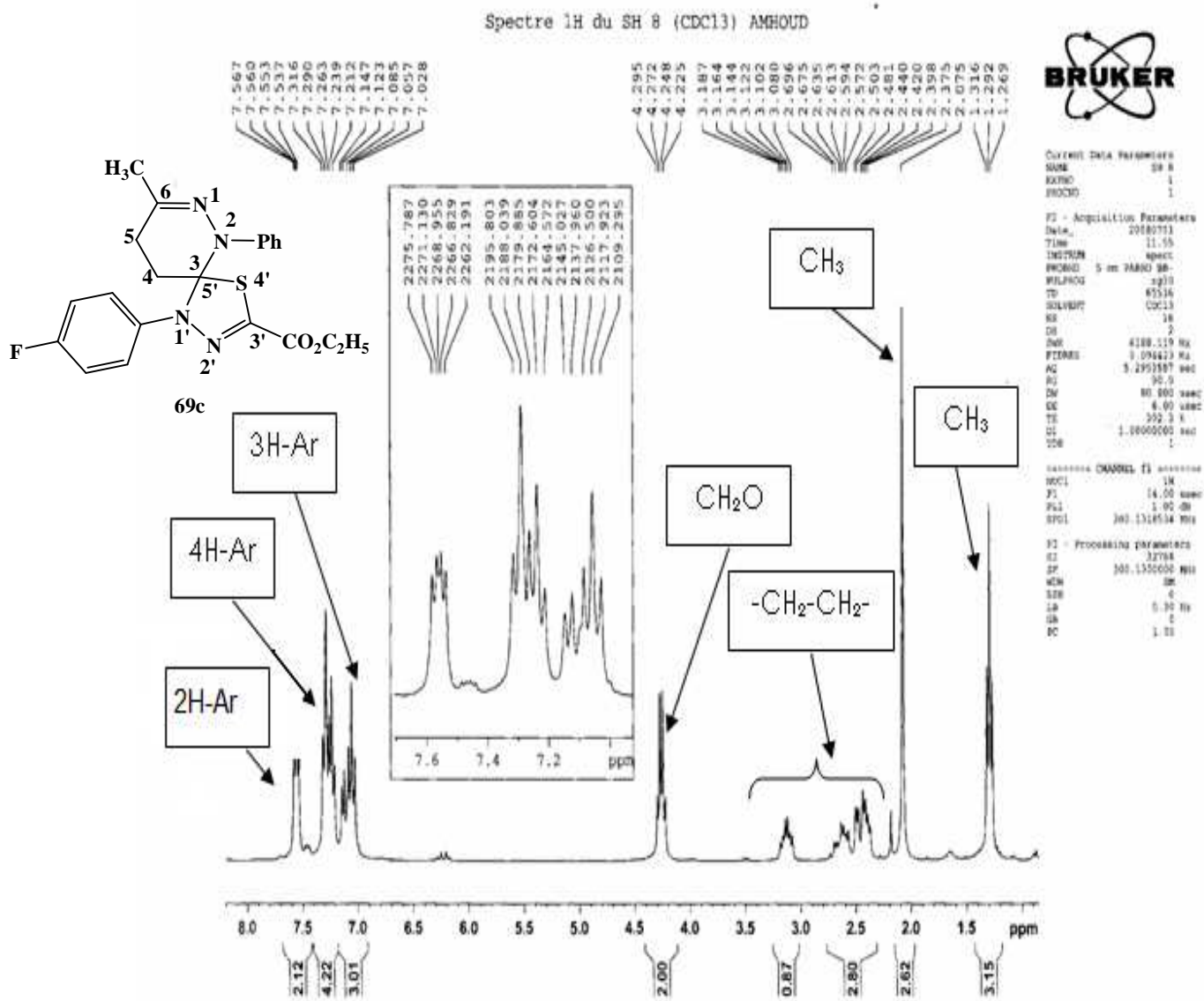


Figure 6a : Spectre RMN<sup>1</sup>H du cycloadduit **69c**

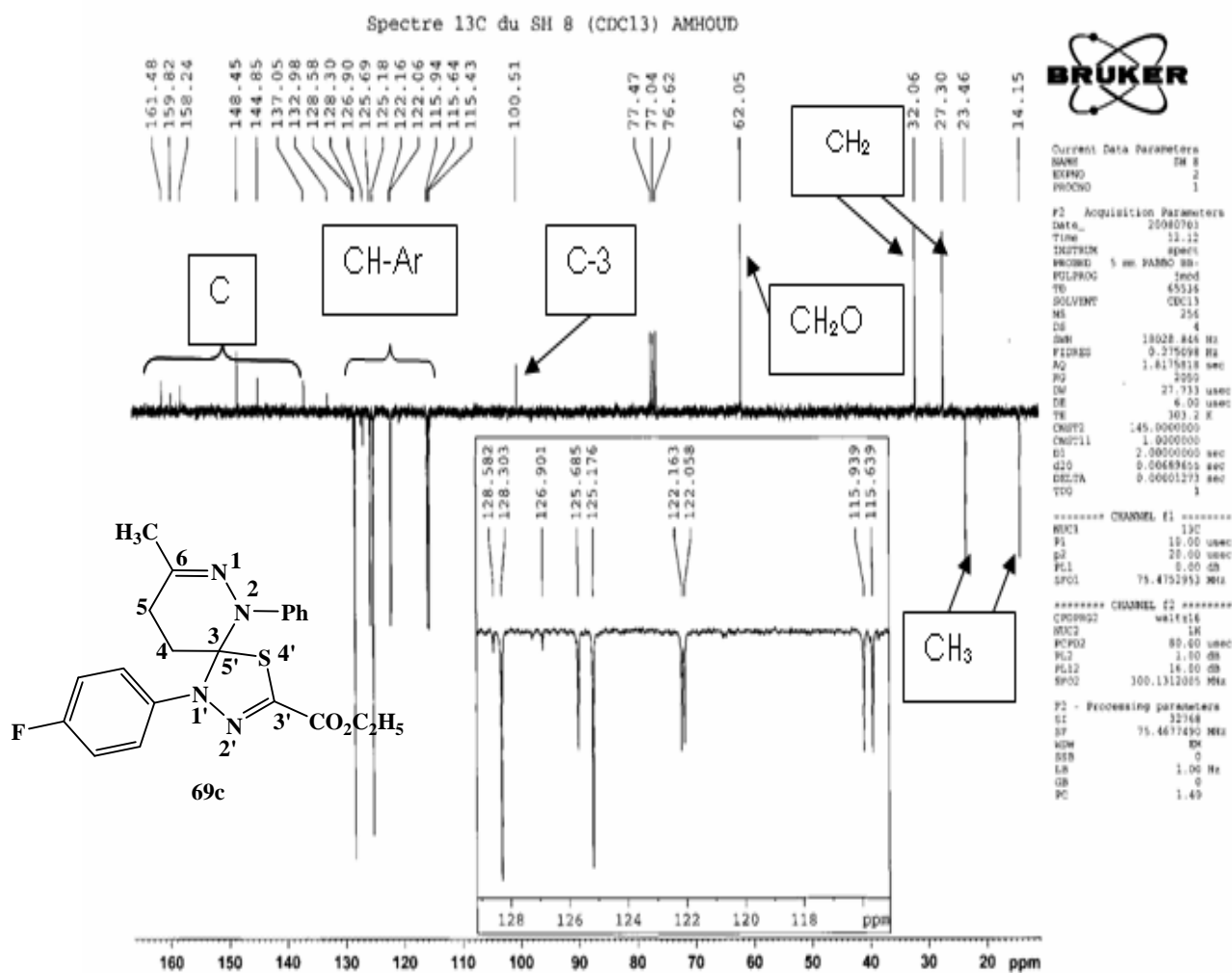


Figure 6b: Spectre RMN <sup>13</sup>C du cycloadduit **69c**

Afin d'examiner l'effet de la nature de la base sur la réaction de condensation des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines sur la pyridazinethione, nous avons étudié la réaction de la pyridazinethione **55** avec le nitrilimine **59h** à reflux de tétrahydrofurane en présence de tertibutanolate de potassium comme base de la réaction. Ces conditions ont permis d'isoler un seul produit *S*-alkylé **70** accompagné d'une aromatisation du cycle pyridazinique (schéma 24). Aucun cycloadduit de type spiro n'a été identifié. Ce résultat montre que le choix de la base joue un rôle important pour l'obtention des cycloadduits de type spiro.

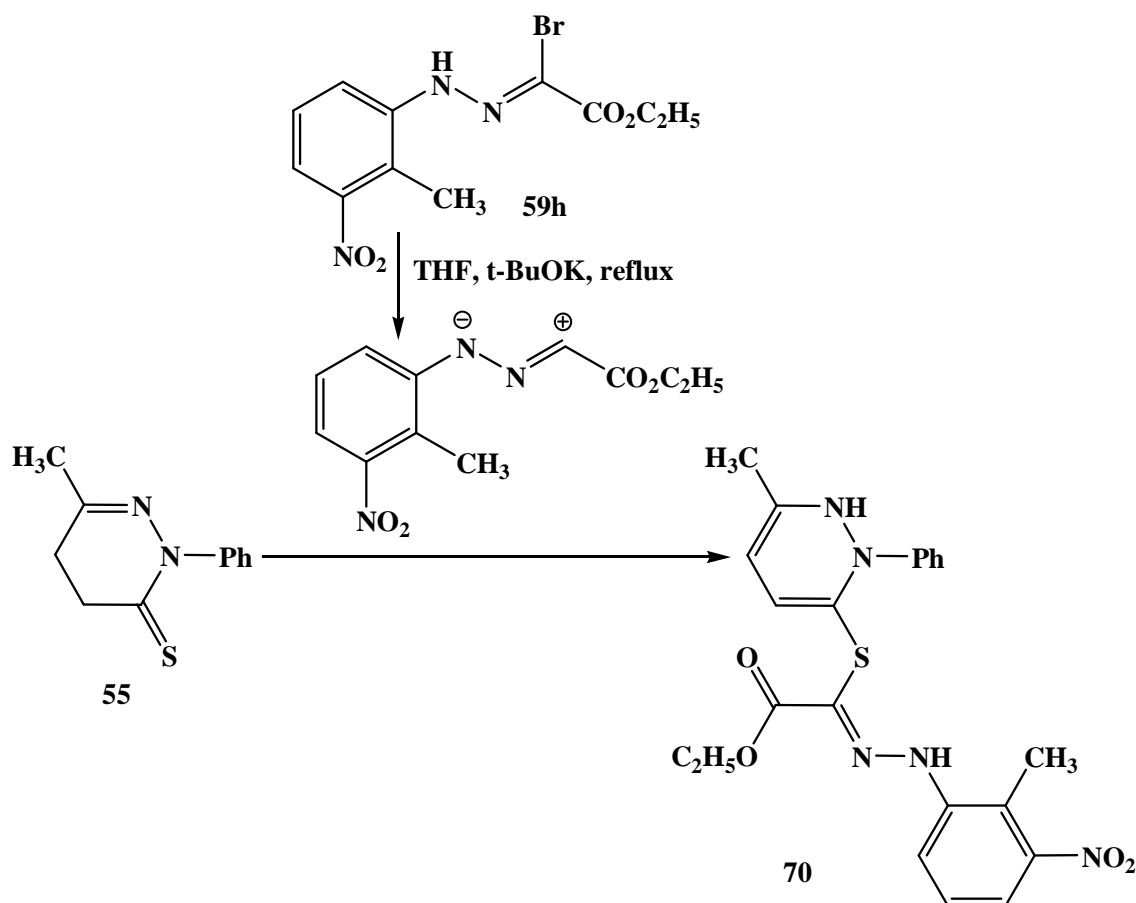


Schéma 24

La structure du composé **70** a été confirmée par les données spectroscopiques RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, DEPT et Masse.

Dans le spectre RMN<sup>1</sup>H du composé **70**, on note en particulier la présence de deux signaux dus aux protons vinyliques du cycle pyridazinique en plus des protons aromatiques et deux signaux à 12, 74 ppm et 7.44 ppm dus aux protons du groupe NH.

Dans le spectre RMN<sup>13</sup>C, on note l'absence du signal du carbone quaternaire C-3, ce qui confirme la S-alkylation de la pyridazinethione **55**.

L'aromatisation du cycle pyridazinique a été observée dans une étude antérieure par Abouricha [74] lors de l'alkylation de la pyridazinethione **71** avec différents agents alkylants dans le THF en présence de tertiobutanolate de potassium (schéma 25). Les dérivés S-alkylés sont isolés avec de bons rendements.

[74]. S. Abouricha, Thèse de Doctoral National, Faculté des Sciences, Oujda, 2006.

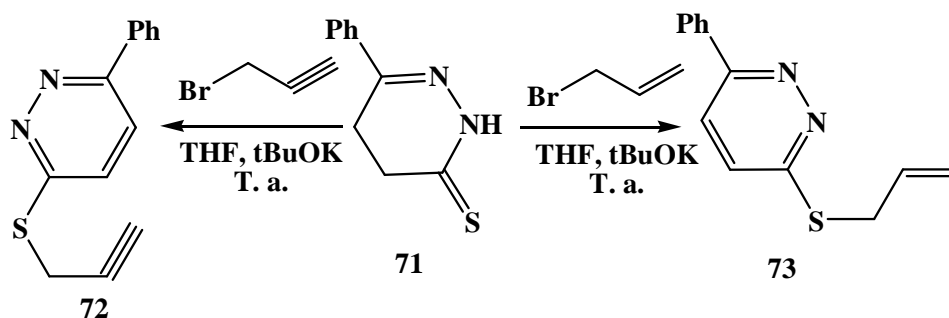


Schéma 25

Pour élargir notre étude à d'autres types de dipôle, nous avons envisagé la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de l'oxyde de mésitonitrile **62** avec la pyridazine-3-thione **55** dans le tétrahydrofurane à température ambiante. Cette réaction conduit à un mélange de deux produits: la pyridazin-3-one **54** et l'isothiocyanate **74** (schéma 26).

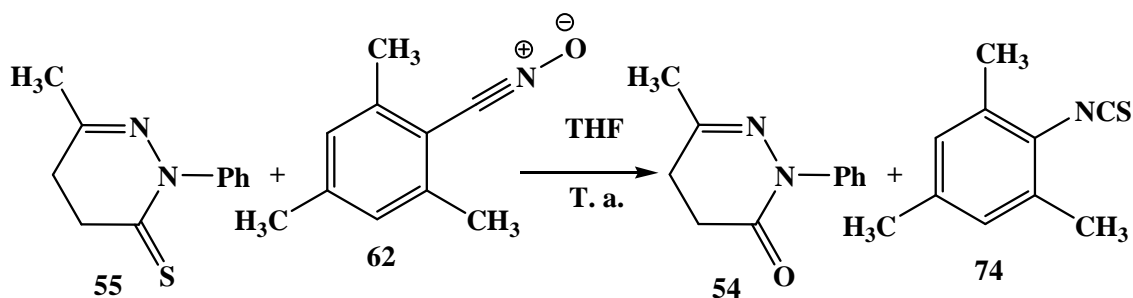
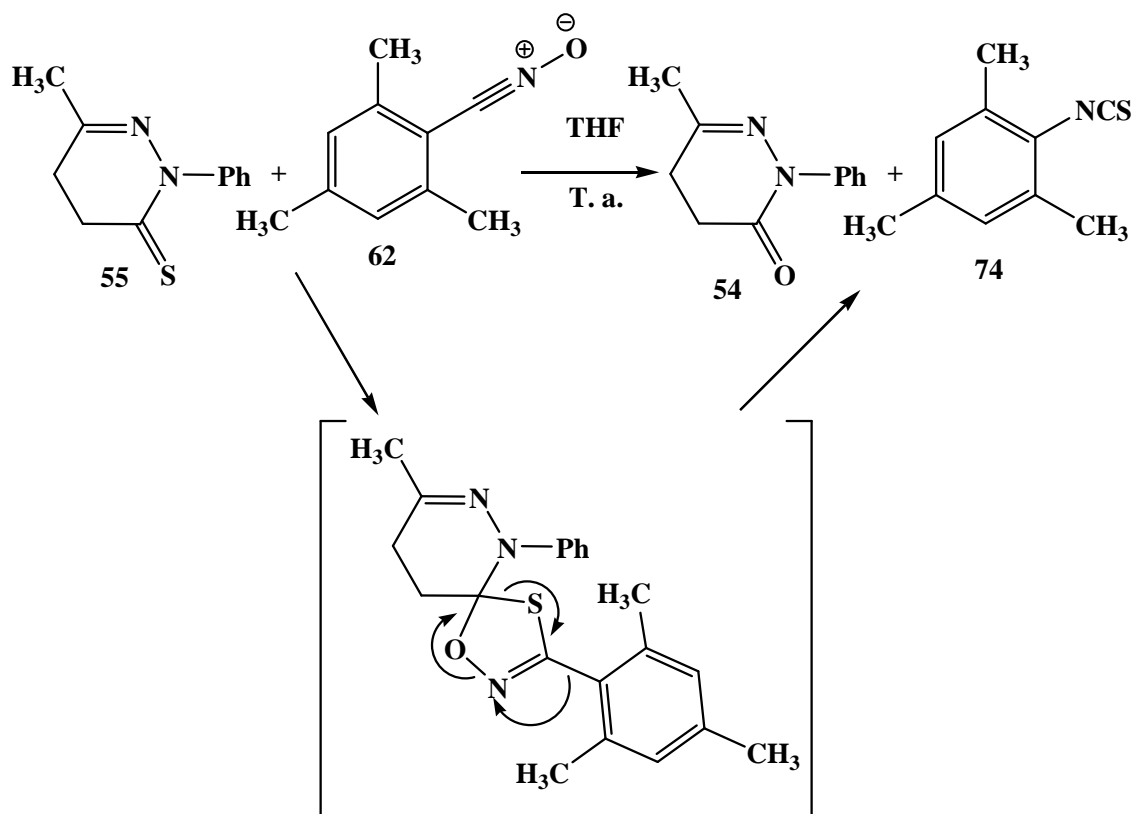


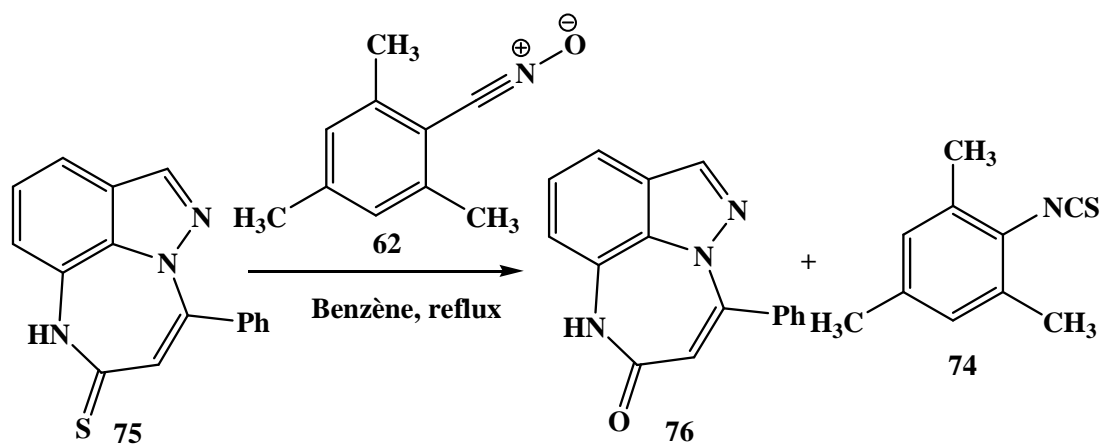
Schéma 26

Le spectre RMN<sup>1</sup>H du composé **74** pris dans le chloroforme deutéré, présente en particulier deux signaux à 2.25 ppm et 2.36 ppm correspondants aux protons des groupes méthyles.

Pour expliquer la formation des composés **54** et **74**, nous avons proposé le mécanisme suivant: le stade initial de la réaction conduit au cycloadduit de types spiro résultant d'une addition du dipôle sur la double liaison thioxo carbone-soufre. Le spirooxathiazole ainsi formé, n'est pas stable. Il subit facilement une ouverture du cycle par migration du groupement aryle vers l'azote (réarrangement proche de celui de Beckmann) et conduit finalement par élimination d'isothiocyanate **74** au pyridazinone **54** (schéma 27).



Notre résultat est analogue à celui observé par Rakib et coll. [75] lors de la réaction de condensation de l'oxyde de mésitonitrile **62** avec la pyrazolo-1,5-benzodiazépin-6-thione **75** à reflux de benzène. Ils obtiennent le dérivé carbonylé **76** à côté de l'isothiocyanate **74** (schéma 28).



[75]. E. M. Rakib, M. Benchidmi, E. M. Essassi, A. El Bouadili, M. Khouili, J. M. Barbe, M. D. Pujol. *Heterocycles* **2000**, 53, 571.



## **VI- Tests pharmacologiques**

### **VI-1- Méthodes et Matériels :**

#### **VI-1-1- Dilution de composés biologiques pour le dosage**

Toutes les molécules sont dissoutes dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 100 mM. Ces solutions sont ensuite diluées avec le sérum de veau fœtal pour obtenir 10X de la solution de concentrations expérimentales finale. La concentration finale de DMSO est toujours maintenu à 0,4% (v / v). Les dilutions suivantes sont obtenues en solution saline tamponnée au phosphate. Des contrôles Opportuns sont faits régulièrement.

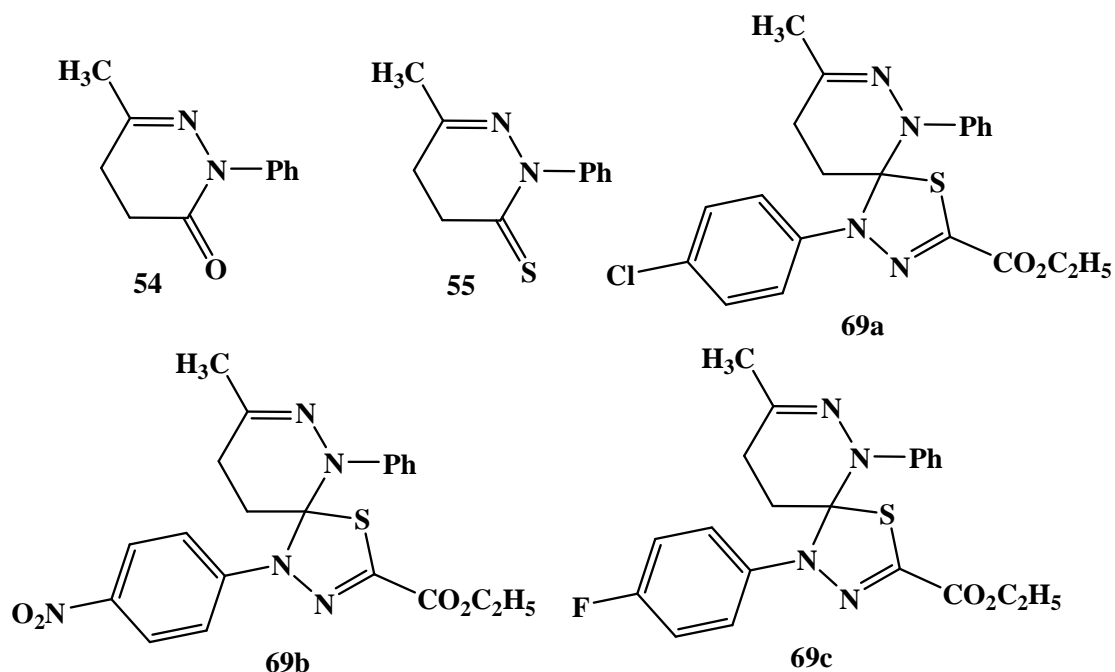
#### **VI-1-2- Test de cytotoxicité**

Les lignées cellulaires humaines sur lesquelles nous avons testé l'activité de nos produits sont : [A2780 : (cancer de l'ovaire), A549 (cancer du poumon), et P388 (leucémie : cancer du sang)]. Ils sont réparties dans des plaques de microtitration de 96 puits à fond plat et rond selon des concentrations différentes qui varient de 1. 000 à 2. 000 par puit. Les plaques sont centrifugées à 275 g pendant 3 minutes et ensuite maintenues pendant environ 6-8 heures avant le traitement. Les molécules sont ajoutées en double exemplaire à la concentration de 10X pour un minimum de 5 concentrations (1/10 fois dilutions en série). Un volume final de 200 mL est atteint dans chaque puits. Des contrôles opportuns sont toujours faits pour chaque expérience. Après 3 jours de culture, 50 mL de 3 - (2,5-diméthyl-2-thiazolyl) -2,5-diphényl-2H-tétrazolium bromure en solution [2 mg / ml en solution saline tamponnée au phosphate (PBS)] est ajoutée dans les puits et incubé pendant 4 heures à 37 ° C. Les microplaques sont ensuite centrifugées à 275 g pendant 3 minutes et le milieu de culture est soigneusement aspiré et remplacé par 100 mL de DMSO 100%.

La solubilisation complète et homogène de cristaux FORMAZAN est obtenue après 20 à 30 minutes d'incubation et de secousse du contenu du puit. L'absorbance est mesurée par un lecteur de microplaque (400 ATC) à 540 nm. Les IC<sub>50</sub> sont calculés par l'analyse des courbes de réponse d'une dose unique et chaque valeur finale présente la moyenne de 3 à 7 expériences.

## VI-2- Résultats et discussions

Cinq produits ont été testés *in vitro* contre trois lignées cellulaires : A2780 ; A549 et P388.



**Figure 7** : Structures des produits testés *in vitro* contre les lignées cellulaires: A2780, A549 et P388

Les résultats des tests pharmacologiques sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 6**: Evaluation antiproliférative des composés **54**, **55**, **69a-c** sur trois lignées cellulaires tumorales: A2780, A549 et P388.

Composés	IC <sub>50</sub> (µM/mL)		
	A2780 (cancer de l'ovaire)	A549 (cancer du poumon)	P388 (cancer du sang)
<b>54</b>	>>100	>>100	>>100
<b>55</b>	62,3±5,8	>>100	94,3±17,9
<b>69a</b>	58,8±3,1	93,3±6,8	9,24±2,66
<b>69b</b>	>>100	>>100	98,1±3,1
<b>69c</b>	65,0±3,8	120,4±20,1	49,7±7,0

En comparant l'activité antiproliférative des deux premières structures : pyridazinone **54** et son homologue soufré **55**, nous avons remarqué que l'insertion d'un atome de soufre n'a pas seulement un effet sur la réactivité chimique mais aussi elle augmente l'activité biologique de la pyridazine. La pyridazinethione **55** est plus active que la pyridazinone **54**. Pour les spirothiadiazolopyridazines, nous avons noté une amélioration significative de

l'activité anticancéreuse pour les molécules **69a** et **69c**. Le composé **69a** est le plus actif dans la série des spirothiadiazolopyridazines. Le composé **69a** présente une concentration inhibitrice assez intéressante vis-à-vis de la lignée cellulaire P388 ( $IC_{50} = 9,24 \pm 2,66$ ). Ce résultat montre que l'effet du substituant en position para du cycle benzénique (dans notre cas le benzène est substitué par un atome de chlore) joue un rôle important dans l'activité biologique.

## VII- Conclusion

Les N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimines sont des précurseurs importants pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type triazolopyridazinones et spirothiadiazolopyridazines via la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de la pyridazinone et de son homologue thione.

Dans le cas de la pyridazinone **54**, l'addition du dipôle a été effectuée préférentiellement sur la double liaison carbone-azote pour la pyridazin-3(2H)-one et conduit à un mélange racémique de deux isomères de type triazolopyridazinoes avec des proportions variées.

Dans le cas de la pyridazinethione **55**, l'addition du dipôle s'effectue de préférence sur la double liaison thioxo et conduit à un seul cycloadduit de type spirothiadiazolopyridazine. La réaction est péri- et régioselective car seulement la double liaison C=S a été affectée et le sens d'addition est unique.

L'oxyde de mésitonitrile utilisé en tant que dipôle-1,3 et qui est différent de N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimine, s'additionne préférentiellement sur la double liaison carbone-soufre. Cependant, en aucun cas il nous a été possible d'isoler le cycloadduit de type spiro à cause de l'instabilité de l'oxathiadiazolopyridazine. Ce dernier évolue rapidement vers la formation du pyridazin-3-one **54** et l'isothiocyanate **74**.

Pour valoriser les résultats obtenus, des tests biologiques ont été réalisés sur quelques produits afin d'évaluer, *in vitro*, leur potentiel antitumoral. D'après les résultats, on constate que l'insertion d'un atome de soufre n'a pas seulement un effet sur la réactivité, mais aussi elle améliore l'activité biologique. Dans la série des spirothiadiazolopyridazines on note une activité significative qui varie en fonction du groupement en position para du cycle benzénique. Le composé **69a** (le benzène est substitué par un atome de chlore) présente une concentration inhibitrice assez intéressante vis-vis de la lignée cellulaire P388 ( $IC_{50} = 9,24 \pm 2,66$ ). La molécule **69a** peut être utilisée comme modèle structural pour préparer d'autres molécules à caractères pharmacologiques potentiels.

## VIII- Partie expérimentale

### Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés

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

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés dans  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75MHz instruments ( $^{13}\text{C}$ ). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN  $^{13}\text{C}$  ont été affectés par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

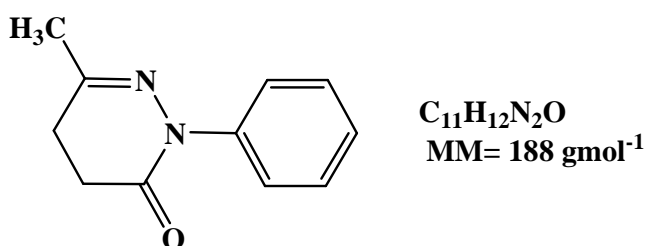
Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 577 en pastille de bromure de potassium pour les solides.

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

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

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

### 6-Méthyl-2-phényl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one : 54



**Mode opératoire :** On dissout (2,6 ml, 25 mmoles) d'acide lévulinique dans 60 ml d'éthanol, on ajoute (2,7 mL, 27 mmoles) de phénylhydrazine. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant quatre heures. Après refroidissement, le solide jaune obtenu est filtré et recristallisé dans le méthanol.

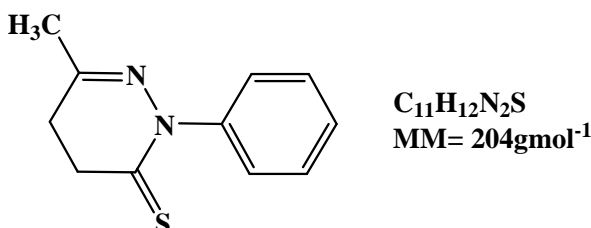
**Rdt=** 85 %

**P.F=** 94-96 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  2,14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,54-2,65 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 7,20-7,31 (m, 2H, H-Ar), 7,36-7,40 (m, 1H, H-Ar), 7,48-7,51 (m, 2H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):**  $\delta$  23,2 (CH<sub>3</sub>), 26,3 (CH<sub>2</sub>), 27,7 (CH<sub>2</sub>), 125,0 (2CH-Ar), 126,5 (CH-Ar), 128,6 (2CH-Ar), 141,1, 154,0 (2C), 165,0 (C=O).

**6-Méthyl-2-phényl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-thione : 55**



**Mode opératoire :** Dans un ballon de 100 ml, muni d'un réfrigérant et d'une garde à CaCl<sub>2</sub> sont dissoutes 2,68.10<sup>-2</sup> mole de la pyridazinone **54** et 15.10<sup>-2</sup> mol du pentasulfure de phosphore dans 40 ml de pyridine. Le mélange est chauffé à reflux (chauffage léger) pendant quatre heures. Après évaporation à sec, on ajoute 10 ml d'eau bouillante et on laisse refroidir, le précipité formé est filtré puis recristallisé dans l'éthanol.

**Rdt= 95 %**

**P.F= 184-186 °C**

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  1,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,40-2,51 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 6,44-6,48 (m, 2H, H-Ar), 6,60-6,63 (m, 1H, H-Ar), 6,98-7,05 (m, 2H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):**  $\delta$  20,2 (CH<sub>3</sub>), 32,6 (CH<sub>2</sub>), 40,0 (CH<sub>2</sub>), 124,8 (CH-Ar), 126,5 (2CH-Ar), 129,1 (2CH-Ar), 139,0, 146,7 (2C), 202,0 (C=S).

**Préparation de précurseurs de la N-aryl-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59a-h**

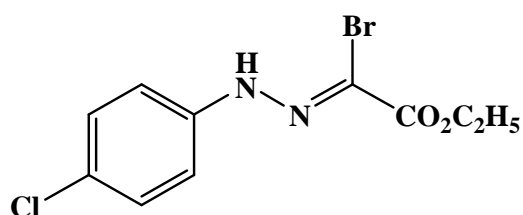
**Synthèse des aryldiazines  $\alpha$ -acétoglyoxylates d'éthyle : 58a-h**

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

### Synthèse des hydrazyno- $\alpha$ -bromoglyoxylates d'éthyle : 59a-h

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

#### N-(4-chlorophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59a

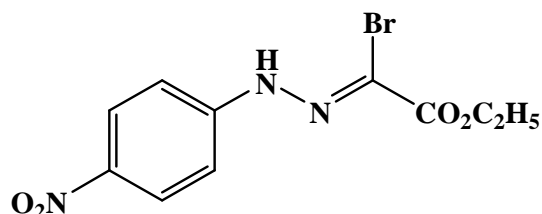


Rdt = 60 %

P.F = 130-132 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  1,40 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 4,39 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,16 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 8,28 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 8,38 (s, 1H, NH).

#### N-(4-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59b

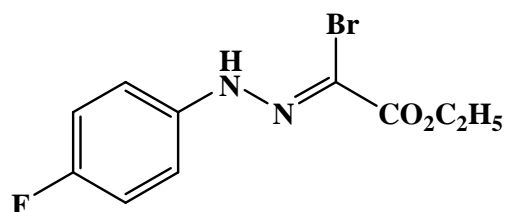


Rdt = 65 %

P.F = 204-206 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  1,42 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 4,42 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,32 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 8,25 (d, 1H, H-Ar, J = 9,0 Hz), 8,61 (s, 1H, NH).

#### N-(4-flourophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59c



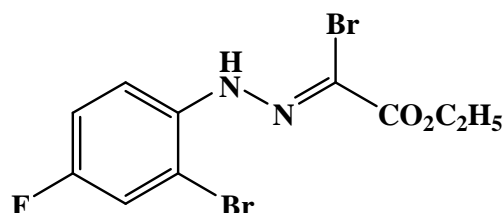
Rdt = 62 %

P.F = 87-89 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1,40 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 4,39 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,02-7,06 (m, 2H, H-Ar, système AB), 7,18-7,21 (m, 2H, H-Ar, système AB), 8,35 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):** δ 14,5 (CH<sub>3</sub>), 63,2 (CH<sub>2</sub>O), 110,0 (C), 116,1 (CH), 116,2 (CH), 116,3 (CH), 116,6 (CH), 137,9 (C), 158,0 (C), 160,4 (CO).

**N-(2-bromo-4-fluorophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59e**

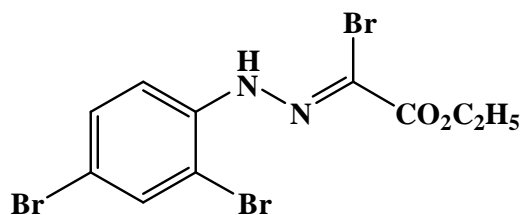


Rdt = 56 %

P.F = 96-98 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1,40 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 4,39 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,08 (d, 1H, H-Ar, J = 2,8 Hz), 7,27 (dd, 1H, H-Ar, J = 2,8 Hz et 7,8 Hz), 8,56 (d, 1H, H-Ar, J = 7,8 Hz), 8,81 (s, 1H, NH).

**N-(2,4-dibromophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59f**



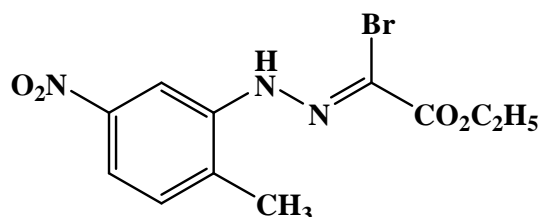
Rdt= 72 %

P.F= 120-122 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1,43 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 4,39 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,39-7,49 (m, 3H, H-Ar), 8,88 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):** δ 14,2 (CH<sub>3</sub>), 63,2 (CH<sub>2</sub>O), 108,9 (C), 113,2 (C), 115,1 (C), 117,4 (CH), 131,9 (CH), 134,6 (CH), 138,0 (C), 159,3 (CO).

**N-(2-méthyl-5-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59g**



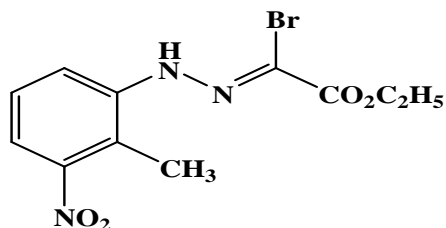
Rdt= 68 %

P.F= 150-152 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1,44 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 2,42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,44 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,31 (d, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz), 7,82 (dd, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz et 2,4 Hz), 8,35 (d, 1H, H-Ar, J = 2,4 Hz), 8,37 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):** δ 14,2 (CH<sub>3</sub>), 17,1 (CH<sub>3</sub>), 63,4 (CH<sub>2</sub>O), 109,6 (CH), 113,7 (C), 117,2 (CH), 129,1 (C), 131,3 (CH), 140,2 (C), 147,8 (C), 159,2 (CO).

**N-(2-méthyl-3-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine : 59h**



Rdt= 50 %

P.F= 112-114 °C

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1,41 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7,2 Hz), 2,41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,40 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7,2 Hz), 7,33 (t, 1H, H-Ar, J = 8,1 Hz), 7,48 (d, 1H, H-Ar, J = 8,0 Hz), 7,78 (d, 1H, H-Ar, J = 8,4 Hz), 8,44 (s, 1H, NH).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):** δ 12,2 (CH<sub>3</sub>), 14,2 (CH<sub>3</sub>), 63,4 (CH<sub>2</sub>O), 113,3 (C), 118,2 (CH), 118,9 (CH), 127,6 (CH), 132,1 (C), 140,9 (C), 151,3 (C), 159,2 (CO).

**Synthèse du mésitaldéhyde oxime : 61**

**Mode opératoire :** A un mélange constitué de 7 g de soude et 9,4 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dissoute chacune dans 10 ml d'eau, on rajoute 15,4 g de mésitaldéhyde dissoute dans 10 ml d'éthanol en maintenant le tout sous agitation à 0°C pendant une heure.



Après évaporation du solvant, le produit est extrait avec du dichlorométhane, laissé précipiter puis filtré.

**Rdt:** 90%

**P.F.** = 126-128 °C (Et<sub>2</sub>O-Hexane)

### Synthèse de l'oxyde de mésitonitrile : 62

**Mode opératoire :** (0,5 ml/ 1,5g) de brome dissoute dans 2 ml d'acide acétique sont ajoutés a un mélange de 10 ml d'acide acétique, 5,6 ml anhydride acétique et (17 mmol, 1,40 g) d'acétate de sodium. 7 mmol de mésitaldéhyde oxime synthétisé est ajouté au mélange réactionnel. Le mélange est agité à une température comprise entre 0 et 5°C pendant une durée de 45min. La solution est versée dans 40 ml d'eau et agitée pendant une heure puis abandonnée au réfrigérateur pendant une nuit. Le solide formé est filtré séché et recristallisé dans l'éthanol.

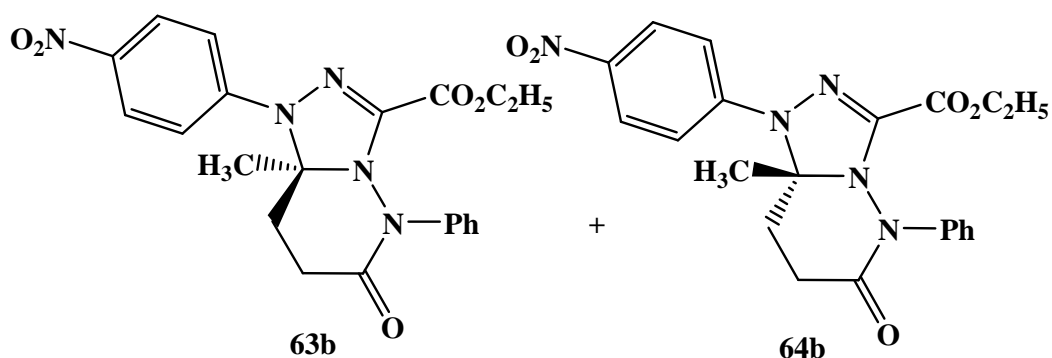
**Rdt:** 64%

**P.F.** = 102-104 °C

### Synthèse des triazolo[4,3-b]pyridazinones : 63b,d,f et 64b,d

**Mode opératoire :** 5 mmoles d'éthylhydrazono-  $\alpha$ -bromoglyoxylate **59b,d,f** et 6 mmoles du carbonate de potassium K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sont dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane (THF) et porté sous agitation à température ambiante. Après 15 min, 5 mmoles de pyridazine-3(2H)-one **54** sont ajoutés et le mélange réactionnel est porté à reflux durant 4 h. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant: acétate/hexane : 2/8).

### 3-Ethoxycarbonyl 1,5,6,7,8,8a-hexahydro-8a-méthyl-1-(4-nitrophényl)-6-oxo-5phényl-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazines : 63b et 64b



**Rdt=** 59 %

**P.F=** 201-203 °C

### Cycloadduit 63b

**IR (KBr):** 1545, 1355 (NO<sub>2</sub>), 1698 (CONH), 1721 (CO ester)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1.44 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 2.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.53-2.62 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.96-3.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.52 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7.2 Hz), 7.28-7.38 (m, 5H, H-Ar), 7.80-7.88 (m, 3H, H-Ar), 8.19 (d, 1H, H-Ar, J = 9.2 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):** δ 14.2 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>3</sub>), 33.5 (CH<sub>2</sub>), 34.6 (CH<sub>2</sub>), 63.3 (CH<sub>2</sub>O), 87.4 (C-8a), 114,1 (2CH), 117.5 (C), 119.3 (2CH), 125.7 (2CH), 126.8 (CH), 128.7 (2CH), 130.5 (C), 132.9 (C), 140.7 (C), 158.8 (C), 172.3 (CO).

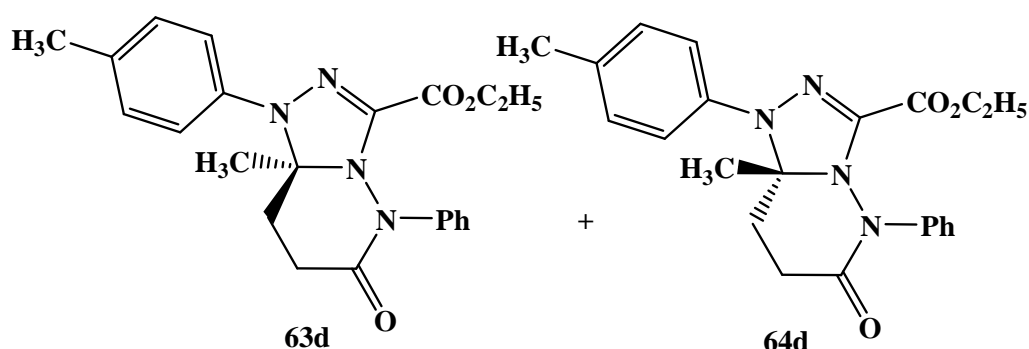
### Cycloadduit 64b

**IR (KBr):** 1545, 1355 (NO<sub>2</sub>), 1698 (CONH), 1721 (CO ester)

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):** δ 1.07 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.53-2.62 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.96-3.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.18 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7.2 Hz), 7.28-7.38 (m, 5H, H-Ar), 7.80-7.88 (m, 3H, H-Ar), 8.19 (d, 1H, H-Ar, J = 9.2 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):** δ 13.6 (CH<sub>3</sub>), 27.9 (CH<sub>3</sub>), 32.0 (CH<sub>2</sub>), 32.7 (CH<sub>2</sub>), 62.7 (CH<sub>2</sub>O), 87.4 (C-8a), 114,1 (2CH), 117.5 (C), 119.3 (2CH), 125.7 (2CH), 126.8 (CH), 128.7 (2CH), 130.5 (C), 132.9 (C), 140.7 (C), 158.8 (C), 172.3 (CO).

### 3-Ethoxycarbonyl 1,5,6,7,8,8a-hexahydro-8a-méthyl-1-(4-méthylphényl)-6-oxo-5phényl-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazines : 63d et 64d



**Rdt=** 66 %

**P.F=** 118-120 °C

### Cycloadduit 63d

**IR (KBr):** 1592 (C=N), 1699 (CONH), 1733 (CO ester).

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  1.33 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 1.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.54-2.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.76-2.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.48 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7.2 Hz), 7.05-7.20 (m, 3H, H-Ar), 7.28-7.42 (m, 5H, H-Ar), 7.90 (d, 1H, H-Ar, J = 7.8 Hz).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz):**  $\delta$  14.1 (CH<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub>), 29.9 (CH<sub>3</sub>), 39.9 (CH<sub>2</sub>), 40.5 (CH<sub>2</sub>), 62.1 (CH<sub>2</sub>O), 90.4 (C-8a), 119.9 (2CH), 124.5 (C), 124.8 (CH), 128.4 (2CH), 128.7 (2CH), 129.0 (2CH), 130.5 (C), 132.9 (C), 142.9 (C), 159.8 (C), 172.9 (CO).

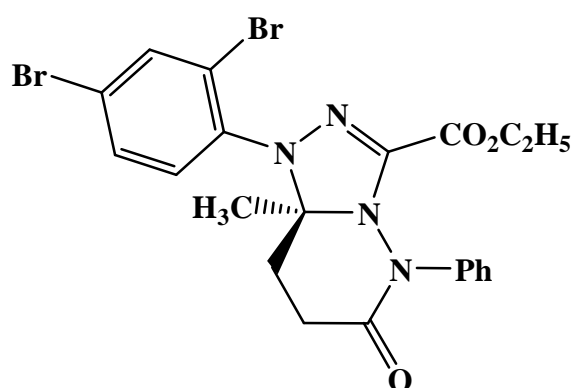
### Cycloadduit 64d

**IR (KBr):** 1592 (C=N), 1699 (CONH), 1733 (CO ester).

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz):**  $\delta$  1.25 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 1.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.54-2.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.76-2.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.15 (q, 2H, CH<sub>2</sub>O, J = 7.2 Hz), 7.05-7.20 (m, 3H, H-Ar), 7.28-7.42 (m, 5H, H-Ar), 7.90 (d, 1H, H-Ar, J = 7.8 Hz).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):**  $\delta$  13.8 (CH<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub>), 30.2 (CH<sub>3</sub>), 33.5 (CH<sub>2</sub>), 34.6 (CH<sub>2</sub>), 63.4 (CH<sub>2</sub>O), 90.4 (C-8a), 119.9 (2CH), 124.5 (C), 124.8 (CH), 128.4 (2CH), 128.7 (2CH), 129.0 (2CH), 130.5 (C), 132.9 (C), 142.9 (C), 159.8 (C), 172.9 (CO).

### 3-Ethoxycarbonyl 1-(2,4-dibromophényl)-1,5,6,7,8,8a-hexahydro-8a-méthyl-6-oxo-5-phényl-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine : 63f



**Rdt** = 53 %

**P.F** = 123-125 °C

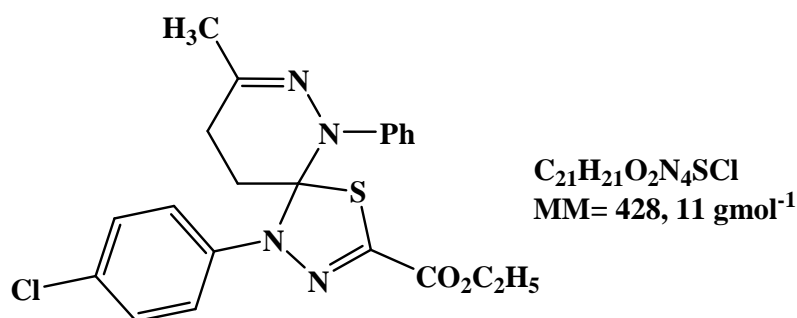
**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):**  $\delta$  1.36 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 1.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.18-2.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.61-2.65 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.35 (q, J = 7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>O), 7,31-7.49 (m, 5H, H-Ar), 7,35-7,39 (m, 1H, H-Ar), 7,65-7,71 (m, 2H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):**  $\delta$  14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.4 (CH<sub>3</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>), 63.4 (CH<sub>2</sub>O), 91.7 (C-8a), 114,5 (C), 116,0 (C), 118,8 (CH), 131,4 (CH), 136,2 (CH), 127,7 (CH-Ar), 128,4 (2CH-Ar), 129,1 (2CH-Ar), 138,0 (C), 141,8 (C), 154,3 (C), 160,3 (CONH), 175.9 (CO).

### Synthèse des spirothiadiazolopyridazines : 69a-d

**Mode opératoire :** 5 mmoles de pyridazine-3(2H)-thione **55** et 5 mmoles d'éthylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylate **59a-d** sont dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane (THF), triéthylamine anhydre (2ml, 2 mmoles) dissoute dans 5 ml de THF est ajoutée goutte à goutte pendant 15 min. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 24 h. Après l'évaporation du solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate/hexane : 2/8).

#### 3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-chlorophényl) spiro[1'H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] : 69a



**Rdt** = 74 %, Solide jaune

**P.F**= 130-132 °C

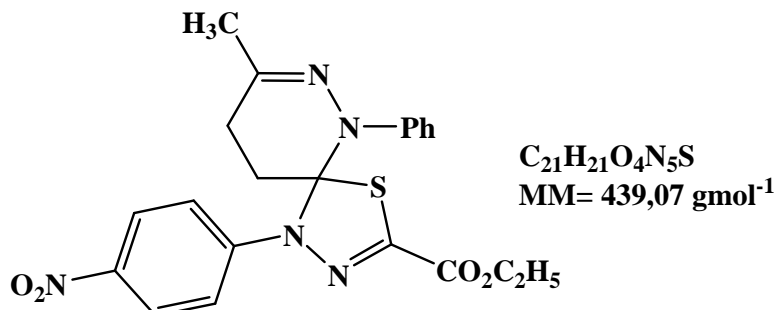
**IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 1592 (C=N), 1338 (C-N), 1708 (C=O)

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):**  $\delta$  1.24 (t, 3H, J=7.1 Hz), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.39-2.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.60-3.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.16 (q, 2H, J=7.1 Hz, CH<sub>2</sub>O), 6.58-6.65 (m, 4H, H-Ar), 6.71-6.79 (m, 1H, H-Ar), 7.05-7.17 (m, 4H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):**  $\delta$  14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.4 (CH<sub>3</sub>), 26.1 (CH<sub>2</sub>), 30.8 (CH<sub>2</sub>), 63.1 (CH<sub>2</sub>O), 99.2 (C-3), 113.5 (2CH-Ar), 125.0 (2CH-Ar), 125.6 (1CH-Ar), 128.3 (2CH-Ar), 129.7 (2CH-Ar), 122.7, 141.9, 143.8, 148.2, 156.0, 161.5 (6C).

ESI-MS: 429 ( $^{35}\text{Cl}$ ) [M+1], 431 ( $^{37}\text{Cl}$ ) [M+3].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-nitrophényl) spiro[1'H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] : 69b**



Rdt = 60 %, Solide orange

P.F. = 164-166 °C

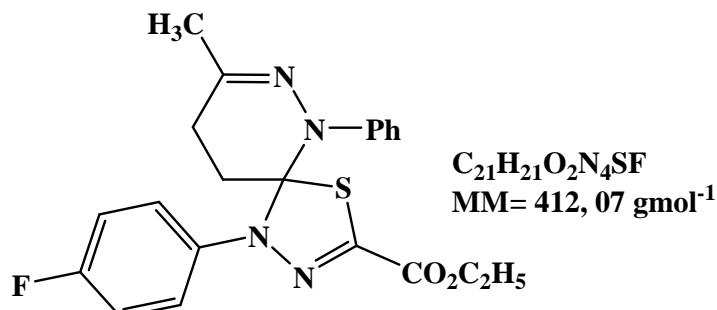
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1585 (C=N), 1330 (C-N), 1710 (C=O), 1560, 1345 ( $\text{NO}_2$ )

RMN $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  1.22 (t, 3H, J=7.09 Hz), 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.40-2.55 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.60-3.01 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.04 (q, 2H, J=7.09 Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 7.15-7.24 (m, 4H, H-Ar), 7.60-7.72 (m, 2H, H-Ar), 8.12-8.25 (m, 3H, H-Ar).

RMN $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz): 14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 23.6 ( $\text{CH}_3$ ), 26.9 ( $\text{CH}_2$ ), 31.8 ( $\text{CH}_2$ ), 62.7 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 100.8 (C-3), 118.3 (2CH-Ar), 124.6 (2CH-Ar), 125.1 (2CH-Ar), 126.0 (1CH-Ar), 128.5 (2CH-Ar), 136.1, 144.5, 147.8, 149.0, 156.2, 162.0 (6C).

ESI-MS: 440 [M+1].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-fluorophényl) spiro[1'H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] : 69c**



Rdt = 51 %, Solide jaune pale

P.F. = 136-138 °C

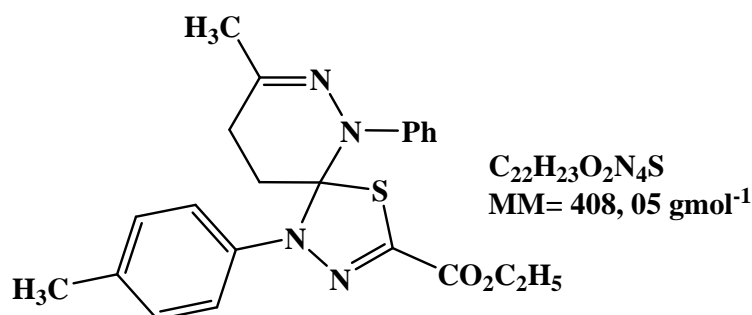
**IR (KBr,  $\text{vcm}^{-1}$ ):** 1595 (C=N), 1345 (C-N), 1705 (C=O)

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):**  $\delta$  1.29 (t, 3H, J=7.09 Hz), 2.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.37-2.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.59-3.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.25 (q, 2H, J=7.09 Hz, CH<sub>2</sub>O), 7.02-7.14 (m, 3H, H-Ar), 7.21-7.31 (m, 4H, H-Ar), 7.53-7.57 (m, 2H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):** 14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 27.3 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 62.0 (CH<sub>2</sub>O), 100.5 (C-3), 115.6 (2CH-Ar), 122.1 (2CH-Ar), 125.2 (2CH-Ar), 125.7 (1CH-Ar), 128.3 (2CH-Ar), 133.0, 137.1, 144.8, 148.4, 158.2, 161.5 (6C).

**ESI-MS:** 413 [M+1].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-méthylphényl)spiro[1'H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] : 69d**



**Rdt** = 58 %, solide jaune

**P.F.** = 148-150 °C

**IR (KBr,  $\text{vcm}^{-1}$ ):** 1590 (C=N), 1347 (C-N), 1705 (C=O)

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):**  $\delta$  1.25 (t, 3H, J=7.1 Hz), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.34-2.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.58-3.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.15 (q, 2H, J=7.1 Hz, CH<sub>2</sub>O), 6.12-6.24 (m, 1H, H-Ar), 6.92-7.32 (m, 5H, H-Ar), 7.42-7.66 (m, 3H, H-Ar).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):**  $\delta$  14.2 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>), 61.6 (CH<sub>2</sub>O), 100.3 (C-3), 118.9 (2CH-Ar), 125.5 (2CH-Ar), 125.9 (1CH-Ar), 128.1 (2CH-Ar), 129.4 (2CH-Ar), 132.2, 133.7, 138.5, 144.8, 147.4, 160.0 (6C).

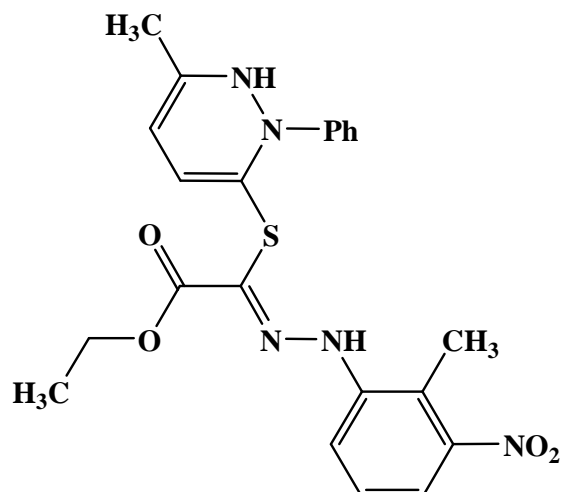
**ESI-MS:** 409 [M+1].

**Synthèse du pyridazine S-alkylé : 70**

**Mode opératoire:** 5 mmoles de pyridazine-3(2H)-thione **55** et 5 mmoles d'éthylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylate **59h** sont dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane (THF), 9 mmoles de t-BuOK est ajoutée. Le mélange réactionnel est porté à reflux sous agitation pendant 24 heures.

Après l'évaporation de solvant, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate/hexane : 3/7).

**1,2-Dihydro-3-méthyl-6-([N-(2-méthyl-3-nitrophényl)-C-éthoxycarbonylnitrilimine]thio)-1-phénylpyridazine : 70**



**Rdt** = 64 %

**P.F.** = 181°C

**IR (KBr,  $\text{vcm}^{-1}$ ):** 1585 (C=N), 1560, 1345 (NO<sub>2</sub>), 1725 (C=O), 3120, 3260 (NH).

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):**  $\delta$  1.12 (t, 3H, J=7.2 Hz), 2.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95 (q, 2H, J=7.2 Hz, CH<sub>2</sub>O), 7.36-7.45 (m, 9H, H-Ar et NH), 7.51 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 7.80 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 12.75 (s, 1H, NH).

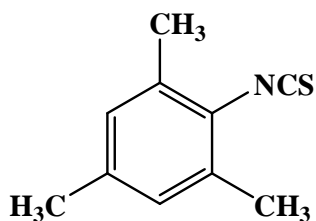
**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):**  $\delta$  12.2 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>), 22.1 (CH<sub>3</sub>), 62.3 (CH<sub>2</sub>O), 116.3 (C), 117.9 (CH), 119.1 (CH), 124.0 (C), 125.2 (2CH), 127.6 (CH), 129.2 (CH), 129.4 (2CH), 132.1 (C), 134.4 (CH), 141.5 (C), 143.2 (C), 151.4 (C), 161.4 (C), 163.9 (C).

**ESI-MS:** 454 [M+1].

**Réaction de l'oxyde de mésitonitrile 62 avec pyridazine-3(2H)-thione 55**

**Mode opératoire:** A une solution de pyridazine-3(2H)-thione **3** (0.5 g, 4 mmoles) dans le tétrahydrofurane, on ajoute une masse (0.65 g, 4 mmoles) d'oxyde 2,4,6-triméthylbenzonitrile **62**. Le mélange réactionnel est porté sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après l'évaporation de solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant acétate/hexane comme éluant.

**2,4,6-Triméthylphényl isothiocyanate : 74**



**Rdt** = 54%, solide jaune

**PF** (°C) = 62–63.

**RMN<sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>): δ 2.25 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 2.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.20 (s, 2H, H-Ph).

**RMN<sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>): δ 18.8 (2CH<sub>3</sub>), 21.3 (CH<sub>3</sub>), 129.0 (2CH), 135.1 (2C), 137.3 (C).



## **CHAPITRE III**

**Réaction de cyanoacétate d'éthyle et *N*-aryl C-  
éthoxycarbonyl nitrilimines :  
Synthèse de nouveaux dérivés pyrazoliques**

## I- Etude bibliographique sur la synthèse des pyrazoles utilisant les nitrilimines

Le développement de méthodes synthétiques simples, faciles et efficaces pour la synthèse d'hétérocycles à cinq chaînons utilisant des réactifs aisément disponibles est l'un des défis majeurs dans la synthèse organique. Le pyrazole et ses dérivés représentent une classe des hétérocycles à cinq chaînons présentant un intérêt pharmaceutique important. Cette sous-unité clé figure dans de nombreuses drogues avec un large spectre d'activités pharmacologiques importantes. Ils sont utilisés comme hypocholestérolémiants, anti-inflammatoires, anti-cancéreux, antidépresseurs et agents antipsychotiques [1-7]. En plus de leur intérêt pharmaceutique, ces molécules trouvent aussi une application importante dans d'autres secteurs industriels comme l'industrie agrochimique (herbicides, fongicides et insecticides) et récemment dans le domaine des photoprotecteurs, ultraviolet stabilisateurs et matériaux énergétiques [8-14].

Nous présentons dans la figure 1 quelques exemples de molécules hétérocycliques contenant le motif pyrazolique et qui ont marqué un véritable exploit dans le domaine pharmaceutique et agrochimique.

- 
- [1] T. Eicher, H. Hauptmann, A. Speicher, *The Chemistry of Heterocycles*, 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, pp. 179.
  - [2] D. R. Sliskovic, B. D. Roth, M. W. Wilson, M. L. Hoefle, R. S. Newton, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 31.
  - [3] T. D. Penning, J. J. Talley, S. R. Bertenshaw, J. S. Carter, P. W. Collins, S. Docter, M. J. Graneto, L. F. Lee, J. W. Malecha, J. M. Miyashiro, R. S. Rogers, D. J. Rogier, S. S. Yu, G. D. Anderson, E. G. Burton, J. N. Cogburn, S. A. Gregory, C. M. Koboldt, W. E. Perkins, K. Seibert, A. W. Veenhuizen, Y. Y. Zhang, P. C. Isakson, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1347.
  - [4] S. R. Stauffer, J. A. Katzenellenbogen, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 318.
  - [5] K. W. Moore, K. Bonner, E. A. Jones, F. Emms, P. D. Leeson, R. Marwood, S. Patel, M. Rowley, S. Thomas, R. W. Carling, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1285.
  - [6] G. J. Withbroe, R. A. Singer, J. E. Sieser, *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 480.
  - [7] B. S. Gerstenberg, M. R. Rauckhorst, J. T. Starr, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2097.
  - [8] J. Elguero in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, vol. 3 (Eds.: R. A. Katritzky, C. W. Rees, E. F. C. Scriven), Pergamon, Oxford, **1996**, pp. 3.
  - [9] E. Cavero, S. Uriel, P. Romero, J. L. Serrano, R. Gimenez, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11608.
  - [10] J. Catalan, F. Fabero, R. M. Claramunt, M. D. S. Maria, M. C. Foces-Foces, F. H. Cano, M. Martinez-Ripoll, J. Elguero, R. Sastre, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5039.
  - [11] C. Ye, G. L. Gard, R. W. Winter, R. G. Syvret, B. Twamley, J. M. Shreeve, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3841.
  - [12] C. Lamberth, *Heterocycles*, **2007**, *71*, 1467.
  - [13] S. Sugai, S. Mio, T. Honma, T. Sakamoto, U.S. Patent 5,424,279, **1995**.
  - [14] R. Katoch-Rouse, L. A. Pavlova, T. Caulder, A. F. Hoffman, A. G. Mukhin, A. G. Horti, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 642.

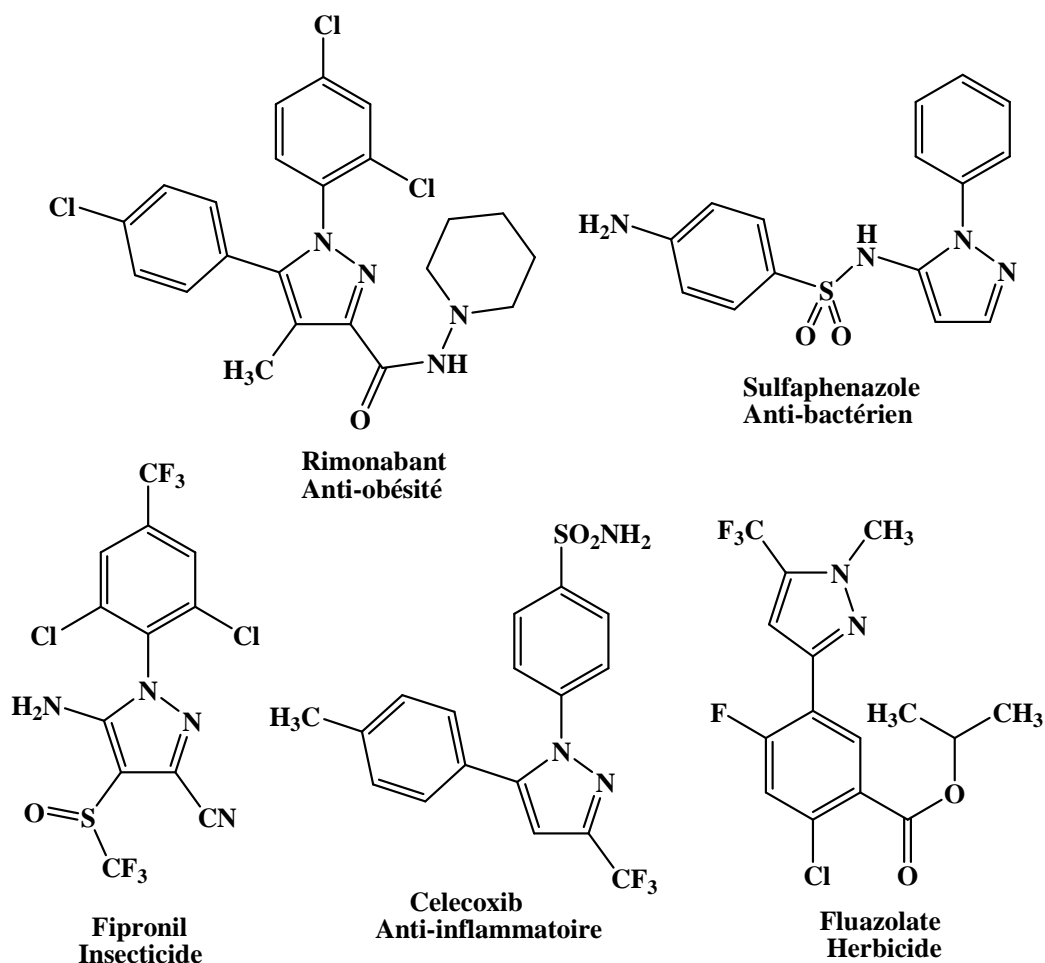


Figure 1 : Exemples de produits pharmaceutiques contenant le motif pyrazolique

Vu l'intérêt présenté par les hétérocycles à base de pyrazole dans le domaine pharmaceutique et agrochimique, plusieurs voies de synthèse ont été développées pour la préparation de nouveaux dérivés du pyrazole, notamment les réactions de cyclocondensation des réactifs difonctionnels 1,3 avec les dérivés de l'hydrazine [15-25] et les réactions de cycloaddition dipolaire des composés diazoïques avec des dérivés de l'alcyne [26-30] et d'autres procédures [31-33].

Avant la présentation de nos résultats expérimentaux, nous avons jugé nécessaire de décrire les travaux de la littérature traitant l'utilisation des nitrilimines en tant que précurseurs pour la synthèse des dérivés du pyrazole.

[15] S. Peruncheralathan, A. K. Yadav, H. Ila, H. J. Junjappa, *Org. Chem.* **2005**, 70, 9644.

[16] S. Kumar, H. Ila, H. J. Junjappa. *Org. Chem.* **2009**, 74, 7046.

[17] R. Surmont, G. Verniest, M. de Schrijver, J. W. Thuring, P. ten Holte, F. Deroose, N. J. de Kimpe. *Org. Chem.* **2011**, 76, 4105.

[18] Y. M. Wang, X. H. Bi, W.-Q. Li, D. H. Li, Q. Zhang, Q. Liu, B. S. Ondon. *Org. Lett.* **2011**, 13, 1722.

[19] R. E. Beveridge, D. Fernando, B. S. Gerstenberger. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 5005.

[20] R. K. Verma, H. Ila, M. S. Singh. *Tetrahedron* **2010**, 66, 7389.

En 1973, Shawali et Hassaneen [34] ont étudié la réaction de condensation des  $\beta$ -cétoesters **1** avec les halohydrazone **2** dans l'éthanol en présence de l'éthanolate de sodium. Ils obtiennent des pyrazoles tétrasubstitués **4** avec des rendements de 65% à 75% (schéma 1).

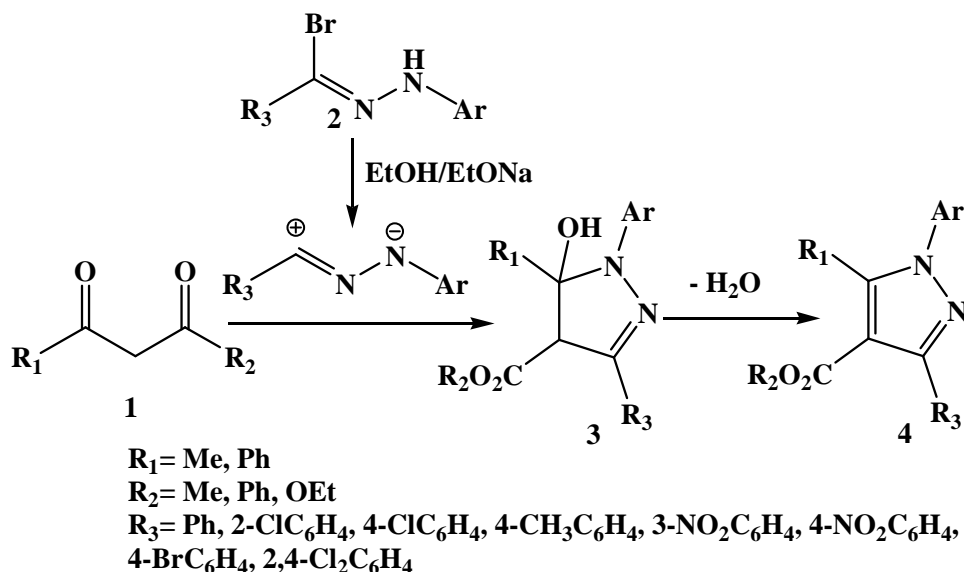


Schéma 1

En 1983, le groupe de Huisgen [35] a décrit la synthèse d'un mélange de deux isomères pyrazoliques **7** et **8** issus de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des dérivés de l'acétylène **5** avec le diphénylnitrilimine généré *in situ* à partir de l' $\alpha$ -chloro benzylidènephénylhydrazine **6** (schéma 2).

- [21] V. Polshettiwar, R. S. Varma. *Tetrahedron* **2010**, 66, 1091.  
[22] H. L. Liu, H. F. Jiang, M. Zhang, W. J. Yao, Q. H. Zhu, Z. Tang. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3805.  
[23] S. T. Heller, S. R. Natarajan. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2675.  
[24] A. Armstrong, L. H. Jones, J. D. Knight, R. D. Kelsey. *Org. Lett.* **2005**, 7, 713.  
[25] Z.-X. Wang, H.-L. Qin, *Green Chem.* **2004**, 6, 90.  
[26] D. Verma, S. Mobin, I. N. N. Namboothiri. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 4764;  
[27] D. J. Babinski, H. R. Aguilar, R. Still, D. E. Frantz. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 5915.  
[28] K. Mohanan, A. R. Martin, L. Toupet, M. Smietana, J. Vasseur. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 3196.  
[29] T. Okitsu, K. Sato, A. Wada. *Org. Lett.* **2010**, 12, 3506.  
[30] D. L. Browne, J. B. Taylor, A. Plant, J. P. A. J. Harry. *Org. Chem.* **2010**, 75, 984.  
[31] J. Barlunga, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 1317.  
[32] J. Barlunga, L. Muñiz, M. J. Iglesias, V. Gotor, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1984**, 611.  
[33] J. Barlunga, J. F. López-Ortiz, M. Tomás, V. Gotor. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1981**, 1891.  
[34] A. S. Shawali, H. M. Hassaneen, *Tetrahedron* **1972**, 29, 121.  
[35] J. S. Clovis, W. Fliege, R. Huisgen, *Chem. Ber.*, **1983**, 116, 3062

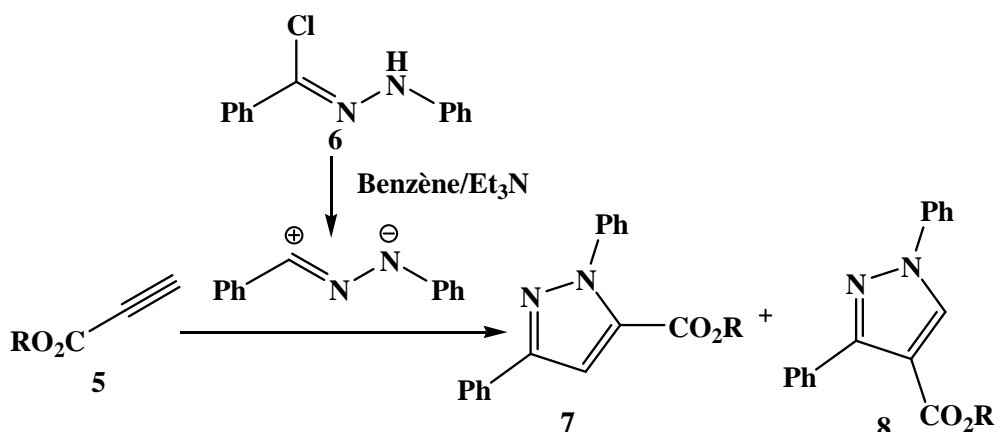


Schéma 2

Deux ans plus tard, Zecchi et coll. [36] ont appliqué la même stratégie en utilisant les phénylesulfonyleacétylènes comme dipolarophiles dans la réaction de cycloaddition avec le diphenylnitrilimine. Cette réaction a conduit à un mélange de deux isomères pyrazoliques tétrasubstitués **10** et **11** (schéma 3). La réaction n'est pas régiosélective.

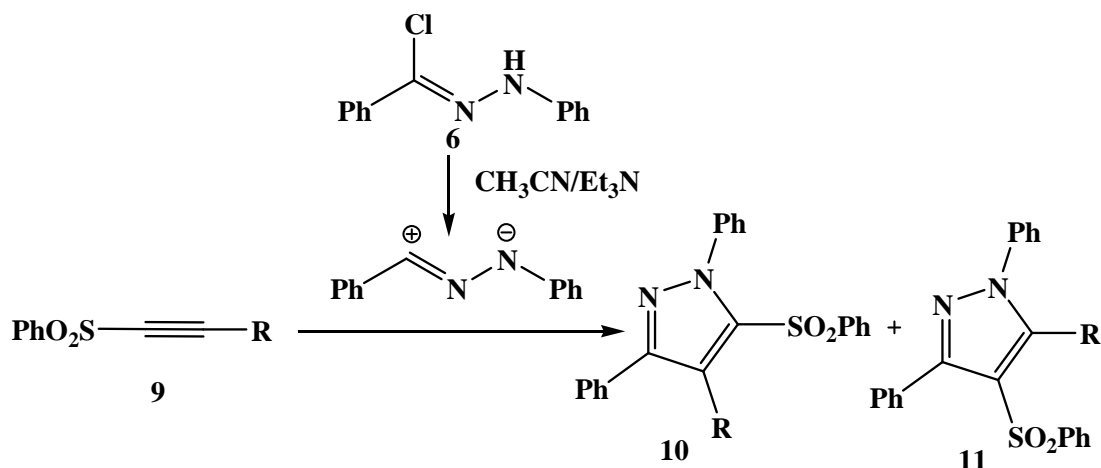


Schéma 3

Les mêmes conditions citées précédemment ont été appliquées à la réaction de cycloaddition des 2-azido-3-aryllacrylates **12** avec les chlorures d'hydrazonoyle **13**. Elle a conduit à un seul régioisomère de structure pyrazolique tétrasubstitué **14** avec des rendements allant de 43% à 73 % (schéma 4) [37].

[36] P. D. Croce, C. La Rosa, G. Zecchi, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1985**, 12, 2621.

[37] Y. Li, D. Hong, P. Lu, Y. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4161.

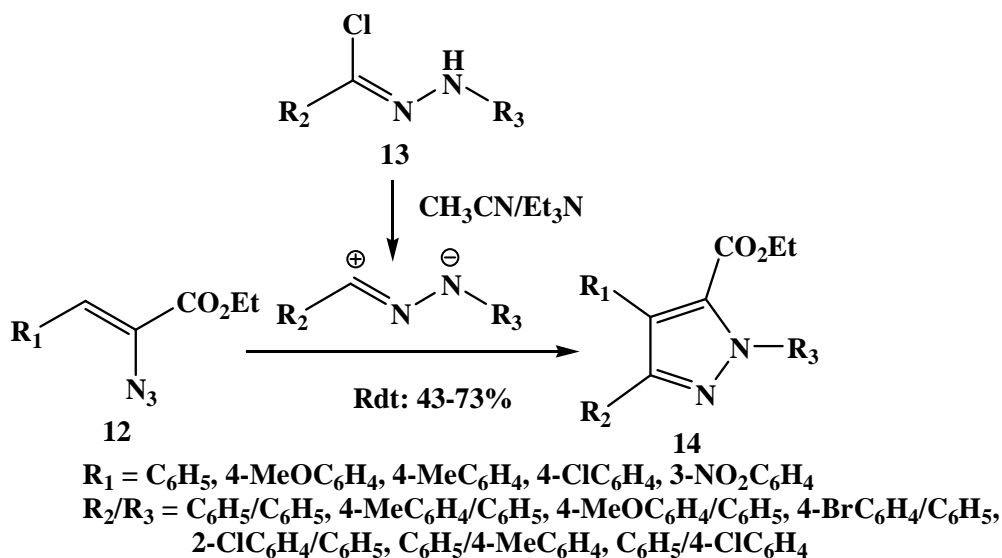


Schéma 4

De sa part, Franchini [38] a étudié la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 des *C*-carboxyméthyl-*N*-arylnitrile imines **16** avec des acétylènes substitués avec des sulfones **15** dans le dioxane à 80 °C en présence de carbonate d'argent  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ . Ces conditions ont permis d'obtenir un mélange de deux régioisomères pyrazoliques **17** et **18** issus de l'addition du dipôle sur la double liaison  $\text{C}=\text{C}$ . La réaction n'est pas régiosélective (schéma 5).

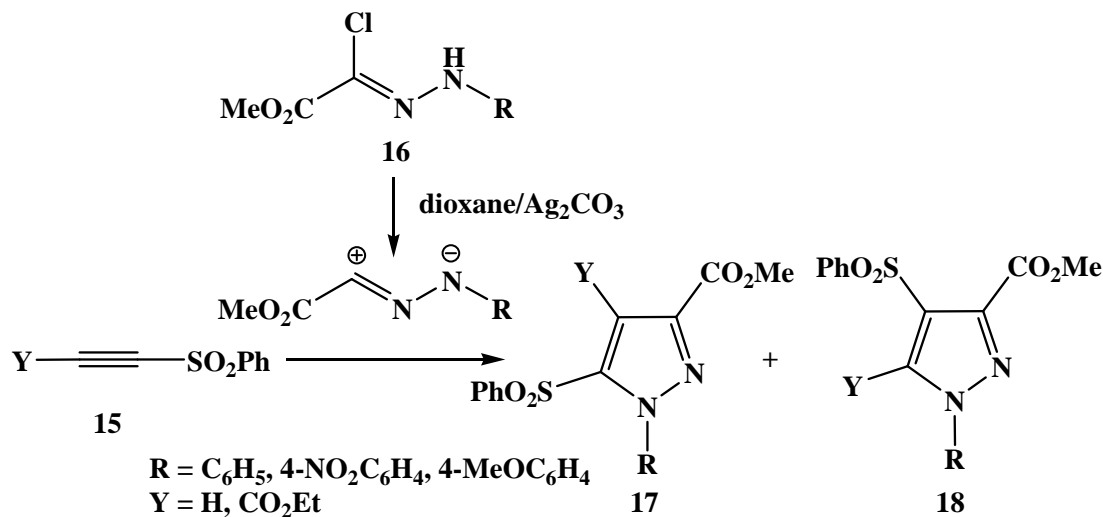
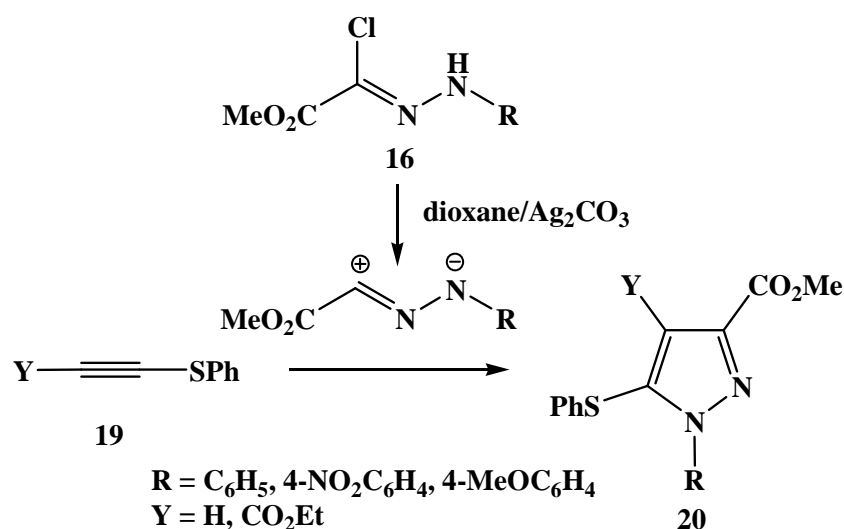


Schéma 5

[38] J. Z. Chandanshive, B. F. Bonini, D. Gentili, M. Fochi, L. Bernardi, M. C. Franchini. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 6440.

Contrairement aux résultats obtenus avec l'acétylène substitué avec un groupe sulfone, la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de l'acétylène substitué avec un groupe thiophényle **19** avec les C-carboxyméthyl-N-arylnitrile imines **16** conduit à un seul régioisomère **20** avec des rendements variant de 45% à 70% (schéma 6). Ce résultat montre que la régiosélectivité de la réaction de cycloaddition est fortement liée à la nature du substituant de l'acétylène.



**Schéma 6**

En 2011, l'équipe de Franchini [39] a étudié aussi la réaction de cycloaddition des cétones cycliques  $\alpha,\beta$ -insaturées **21** avec C-carboxyméthyl-N-arylnitrile imines **16**. Cette réaction conduit initialement aux deux régioisomères pyrazolines **A** et **B** qui se transforment après aromatisation aux deux cycloadduits pyrazoliques **22** et **23** (schéma 7).

[39] J. Z. Chandanshive, B. F. Bonini, W. Tiznado, C. A. Escobar, J. Caballero, C. Femoni, M. Fochi, M. C. Franchini. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 4806.

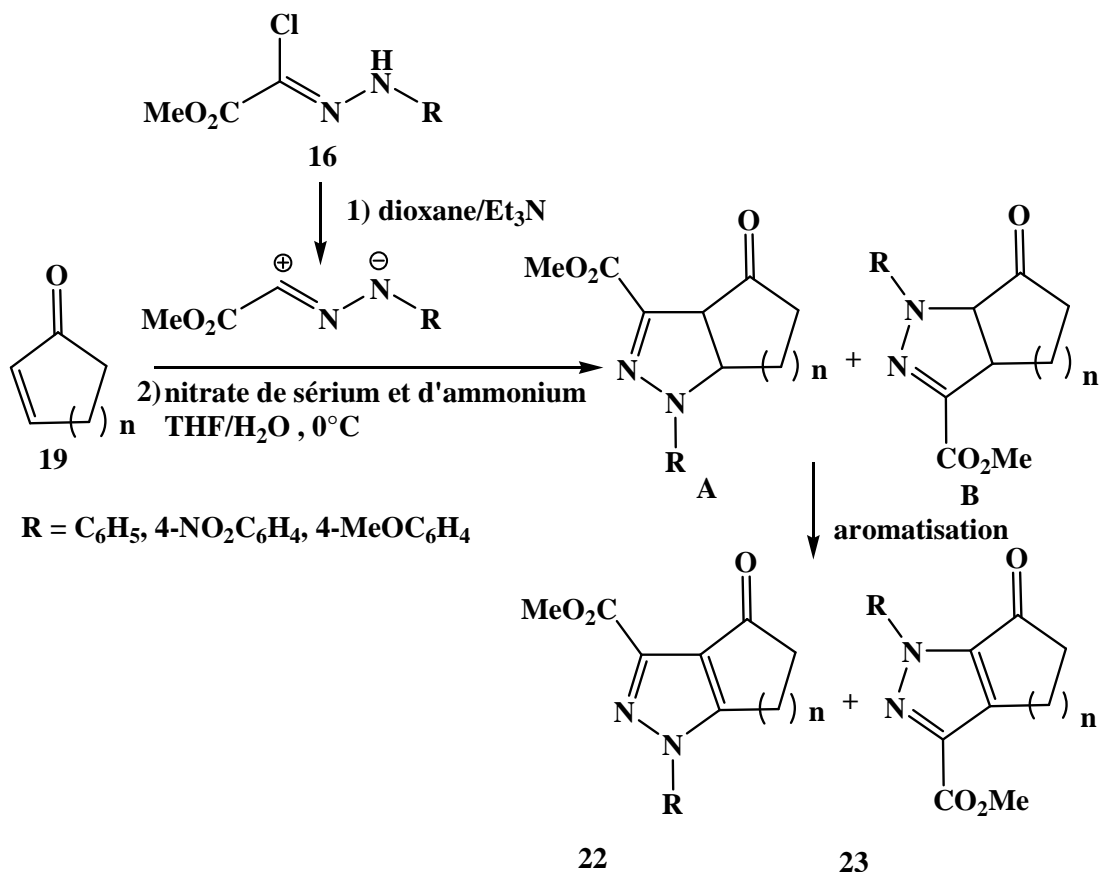


Schéma 7

Récemment, Franchini et coll. [40] ont préparé un mélange de nouveaux régioisomères pyrazoliques à partir de l'étude de la réactivité d'ynamide *tert*-butyl *N*-éthynyl-*N*-phénylcarbamate avec *C*-carboxyméthyl-*N*-phénylnitrilimine, régénéré *in situ* du chlorure d'hydrazonoyle, dans le dioxane en présence du carbonate d'argent comme base de la réaction (schéma 8).

[40] P. B. González, J. Z. Chandanshive, M. Fochi, B. F. Bonini, A. Mazzanti, L. Bernardi, E. Locatelli, L. Caruana, C. Monasterolo, M. C. Franchini. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 8108.



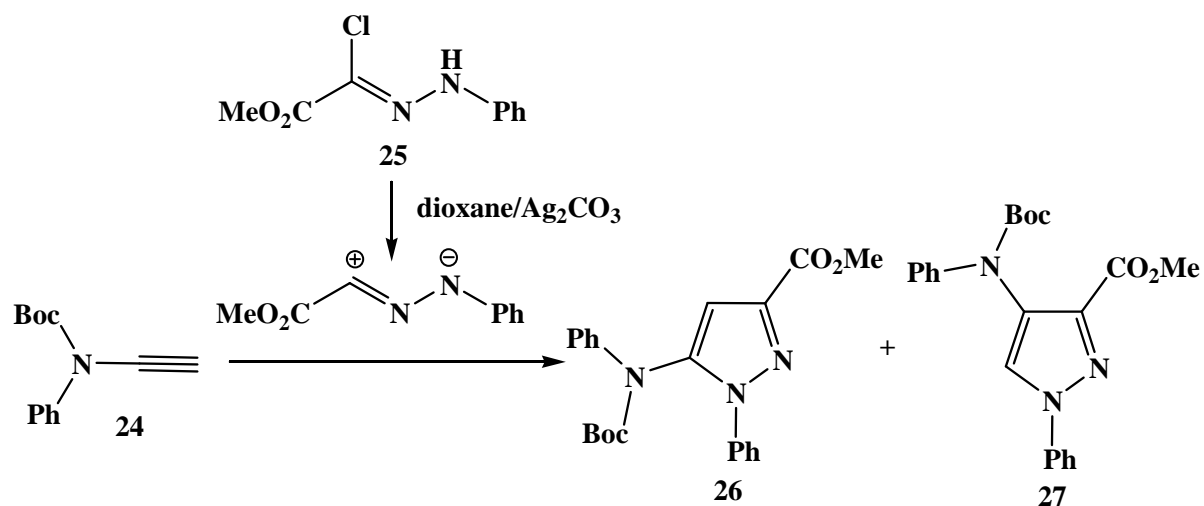


Schéma 8

En 2010, Hamme et coll. [41] ont décrit la synthèse de nouveaux pyrazoles tétrasubstitués **30** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de l' $\alpha$ -bromocinnamaldéhyde **28** avec différents nitrilimines **29** dans le dichlorométhane en présence de la triéthylamine. La réaction est totalement régiosélective (schéma 9).

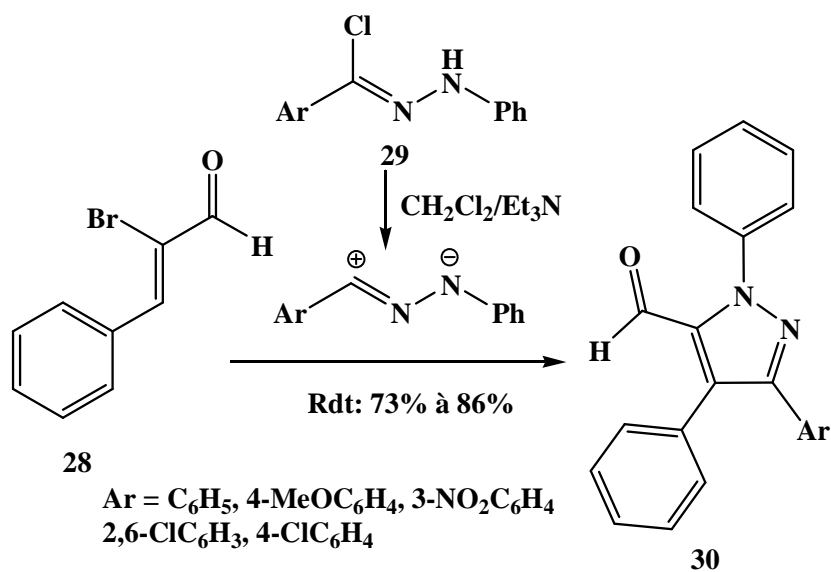
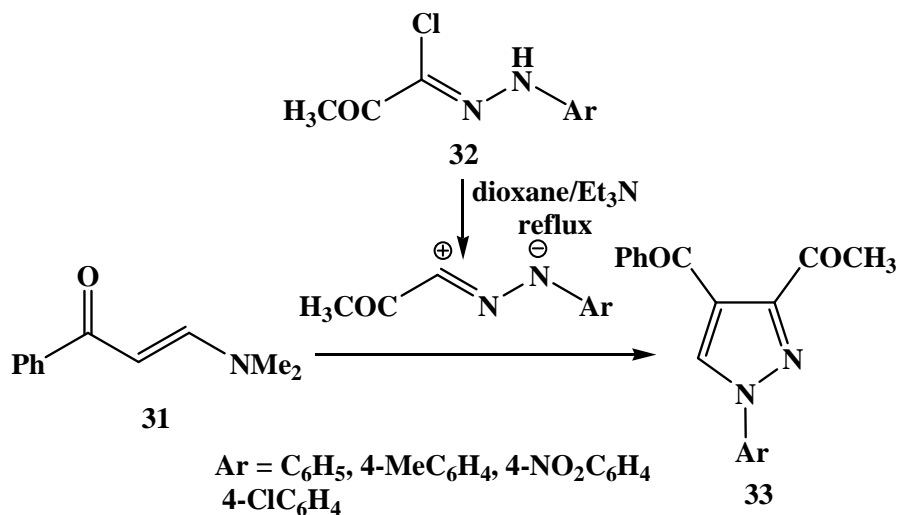


Schéma 9

[41] S. Dadiboyena, E. J. Valente, A. T. Hamme. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1341.

La même année, l'équipe de Riyadh [42] a rapporté la synthèse des pyrazoles trisubstitués **33** via la réaction de cycloaddition du 1-phényl-3-(*N,N*-diméthylamino)-propénone **31** avec les chlorures *N*-aryl 2-oxo-propanehydrasonoyles **32** portés à reflux du dioxane en présence de la triéthylamine (schéma 10).



**Schéma 10**

Par ailleurs, l'équipe de Yavari [43] a décrit la synthèse de nouveaux pyrazoles **37**, mettant en œuvre la réaction de condensation entre trois composés (sulfonyl azide **34**, alcyne **35** et le chlorure hydrazonoyle **36**). La réaction est agitée à température ambiante dans le diméthylformamide en présence de la triéthylamine et l'iodure de cuivre comme catalyseur de la réaction. Les pyrazoles synthétisés sont obtenus avec de bons rendements (60% à 91%) (schéma 11).

[42] S. M. Riyadh, T. A. Farghaly, M. A. Abdallah, M. M. Abdalla, M. R. Abd El-Aziz. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 1042.

[43] I. Yavari, M. Nematpour, S. Yavari, F. Sadeghizadeh. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 1889.

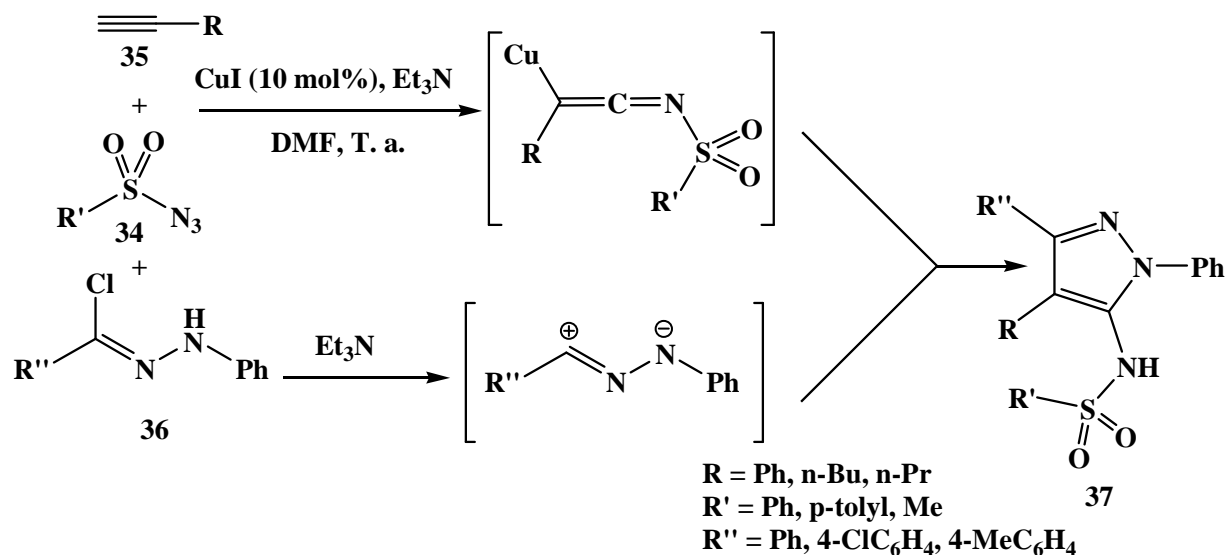


Schéma 11

Très récemment, le groupe de Wang [44] a développé une nouvelle méthode de synthèse simple et efficace des pyrazoles trisubstitués **40** à partir de la réaction de condensation des chlorures *N*-arylhyaazonoyles **38** avec les  $\beta$ -oxophosphonates **39** dans le diméthyléther en présence de l'hydroxyde de lithium. Les pyrazoles sont obtenus avec d'excellents rendements (85% à 95%) (schéma 12).

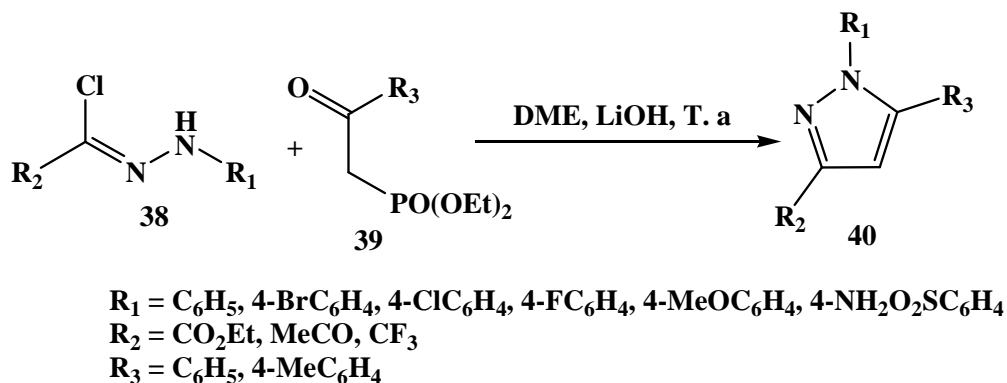


Schéma 12

[44] A. Sun, J-H. Ye, H. Yu, W. Zhang, X. Wang. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 889.

En 2010, Wang et coll. [45] ont décrit la synthèse de nouveaux cycloadduits de type pyrazoliques **43** à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de N-(4-chloro-2-fluorophényl)maleimide **41** avec nitrilimines **42** dans le benzène en présence de la triéthylamine à température ambiante (schéma 13). Les auteurs ont montré que ces produits sont doués d'activités antifongiques intéressantes.

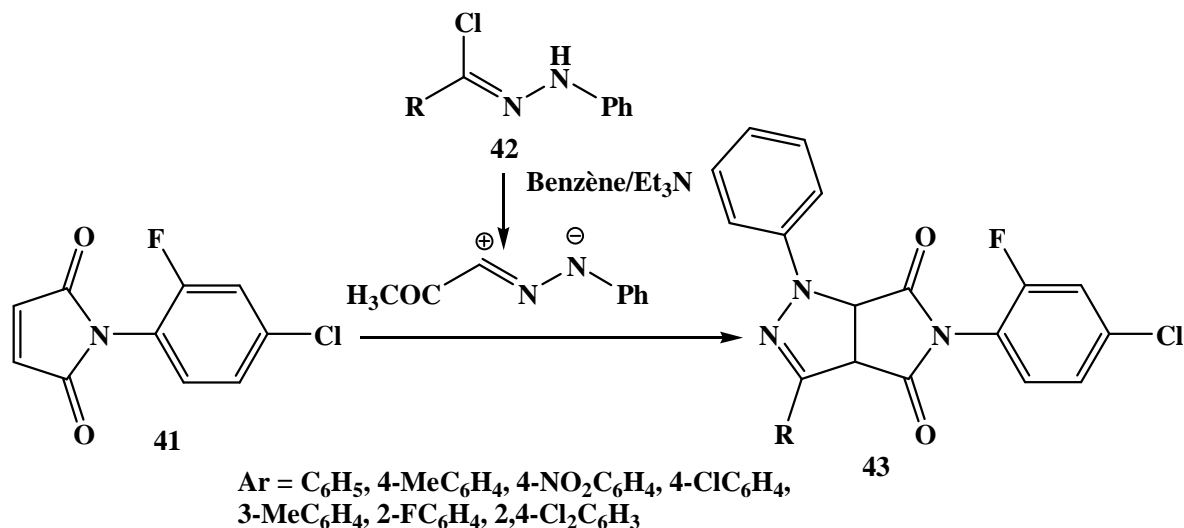


Schéma 13

De sa part, Dalloul [46] a réalisé la synthèse des 1-aryl-3-aryol-4-éthyl-5-(2-hydroxybenzoyl)pyrazoles **46** en condensant 2-propylidène-3-coumaranones **44** avec les nitrilimines régénérés *in situ* à partir de l'halogénure d'hydrazonoyle **45** à reflux du benzène en présence de la triéthylamine (schéma 14).

[45] C-Y. Zhang, X-H. Liu, B-L. Wang, S-H. Wang, Z-M. Li. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2010**, 75, 489.

[46] H. M. Dalloul. *J. Chem.* **2011**, 29, 751.

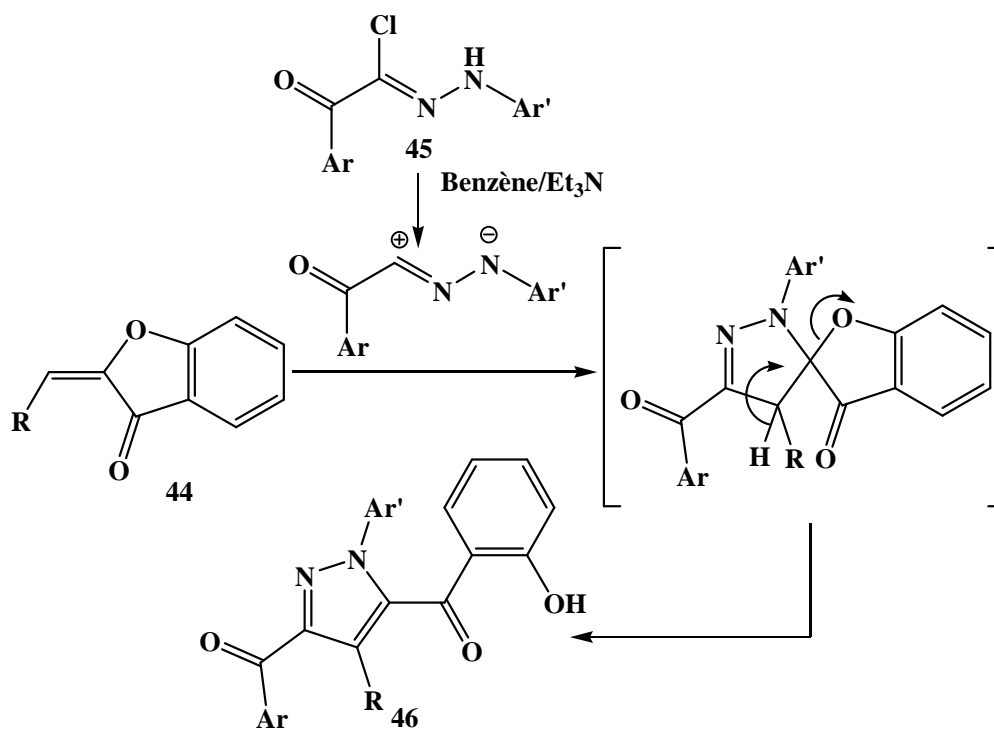


Schéma 14

Le même auteur a développé aussi la synthèse des spiropyrazolines **48** à partir de la réaction de cycloaddition des nitrilimines **45** avec les 3-éthylidène-1-indanones **47** à reflux de benzène et en présence de la triéthylamine (schéma 15). Les pyrazoles **46** et les spiropyrazolines **48** ont montré des activités antibactériennes significatives.

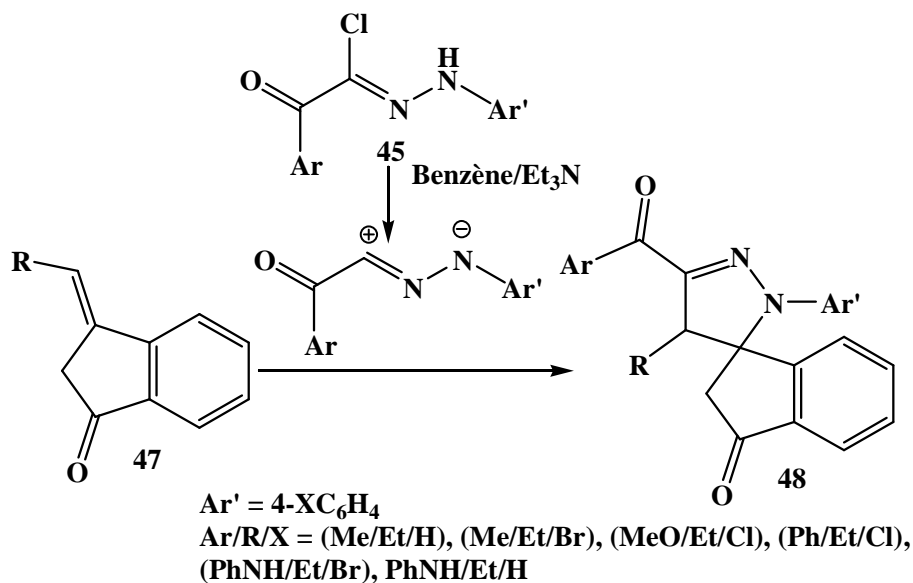


Schéma 15

Elnagdi et coll. [47] ont pu préparer des pyrazole-4-carbonitriles di-substitués à partir de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 de 3-diéthylaminoacrylonitrile avec des halogénures d'hydrazonoyle à reflux de l'éthanol et en présence de la triéthylamine (schéma 16).

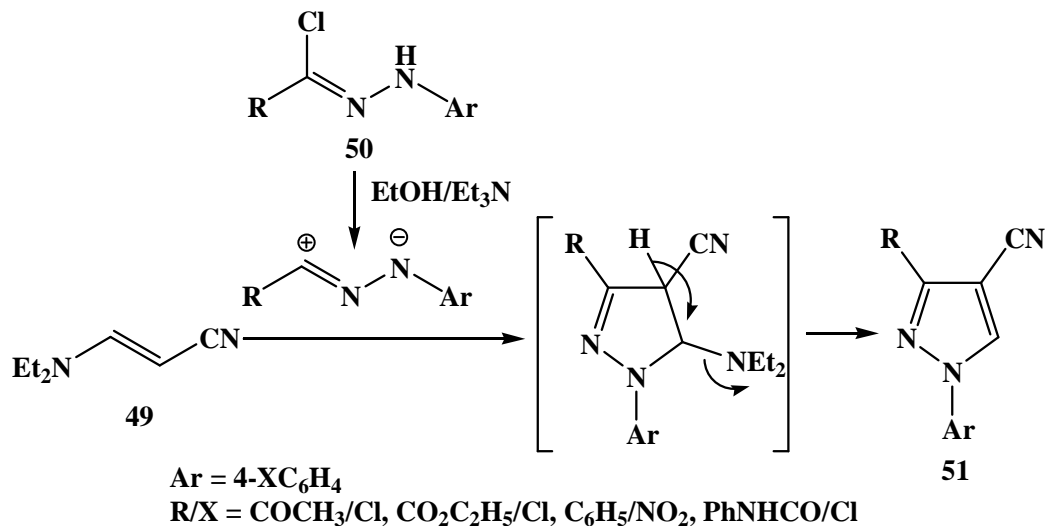


Schéma 16

Récemment, Shibata et coll [48] ont mis au point une méthode de synthèse efficace permettant d'obtenir les pyrazoles triflones **54** avec d'excellents rendements (80% à 92%) à partir de la réaction de cycloaddition des triflyl alcynes **52** avec différents nitrilimines **53** (schéma 17).

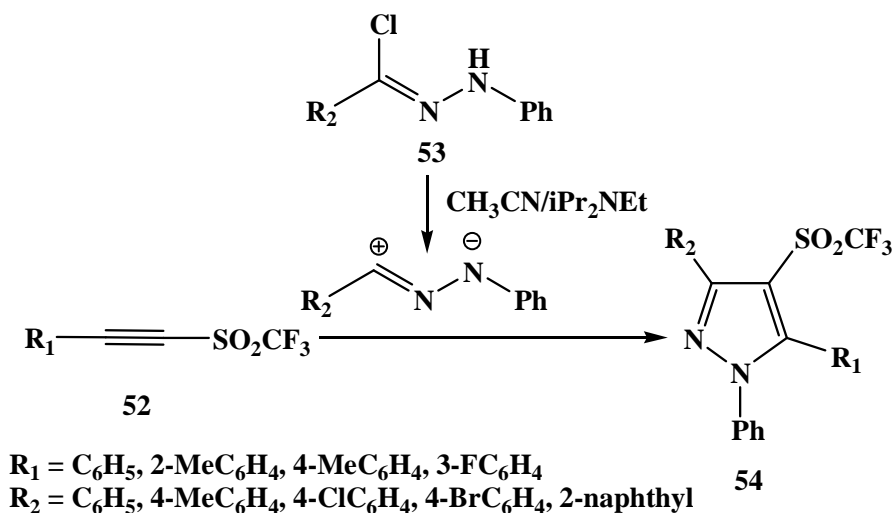
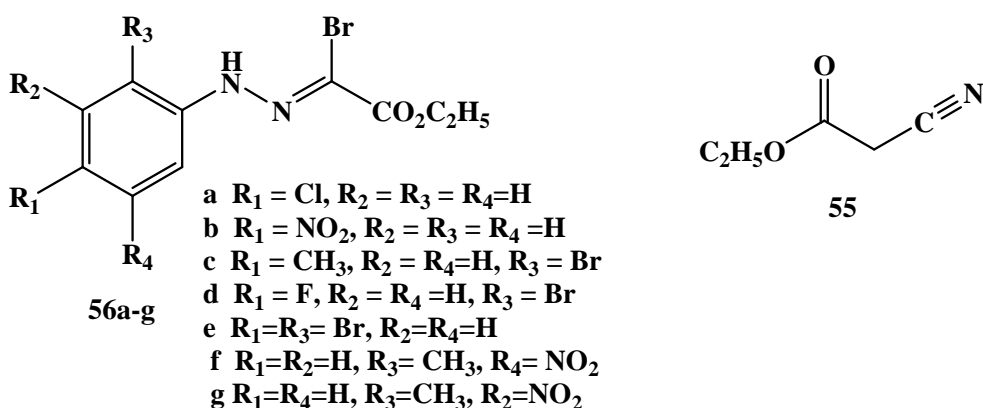


Schéma 17

[47] S. A. S. Ghazlan, I. A. Abdelhamid, H. M. Gaber, M. H. Elnagdi. *J. Heterocyclic Chem.*, **2005**, 42, 1185.  
 [48] H. Kawai, Z. Yuan, E. Tokunaga, N. Shibata. *Org. Lett.*, **2012**, 14, 5330.

Ces données bibliographiques montrent que les halogénures d'hydrazonoyle sont des précurseurs très importants pour la synthèse des dérivés de la pyrazole. Plusieurs dipôlarophiles ont été testés via la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 pour accéder en une seule étape aux dérivés pyrazoliques polysubstitués. Les auteurs ont montré aussi que les pyrazoles sont doués de propriétés pharmacologiques diverses. Dans la continuité de nos études portant sur l'utilité des halogénures d'hydrazonoyle comme précurseurs pour la synthèse de divers systèmes hétérocycliques, nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à l'étude de la réactivité de cyanoacétate d'éthyle **55** avec différents éthylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates **56a-g** en vue de synthétiser de nouveaux dérivés pyrazoliques et évaluer ensuite leurs potentiels pharmacologiques.

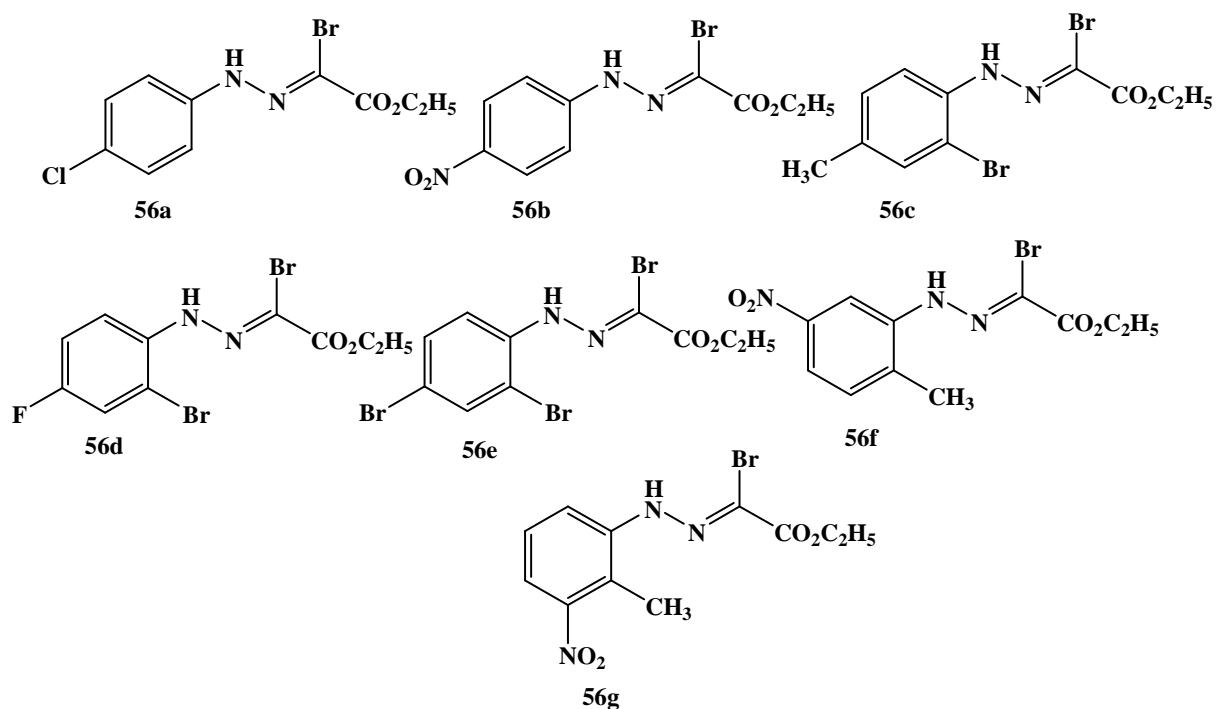


**Figure 2** : Ethylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylate **56a-g** et cyanoacétate d'éthyle **55**

## II- Réaction du cyanoacétate d'éthyle avec N-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines

### II-1- Synthèse des éthylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates

Les dipôles que nous avons préparé et qui ont fait l'objet de la réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 avec le cyanoacétate d'éthyle **55** sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 3** : Structures des éthylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates **56a-g**

Les propriétés physicochimiques et les données spectroscopiques RMN des nitrilimines **56a-g** sont déjà décrites dans le chapitre II.

## II-2- Réaction de cycloaddition [2+3] du cyanoacétate d'éthyle avec les nitrilimines

La réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 du cyanoacétate d'éthyle avec *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrile imines **57a-g** régénérés *in situ* à partir d'éthyl hydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates **56a-g** dans l'éthanol en présence de l'éthanolate de sodium à température ambiante, conduit dans tous les cas à un seul composé de structure diéthyl 5-amino-1-(aryl)-1*H*-pyrazole-3,4-dicarboxylates **58a-g** (schéma 18). Les pyrazoles polysubstitués **58a-g** sont obtenus avec des rendements modérés (40-56%).



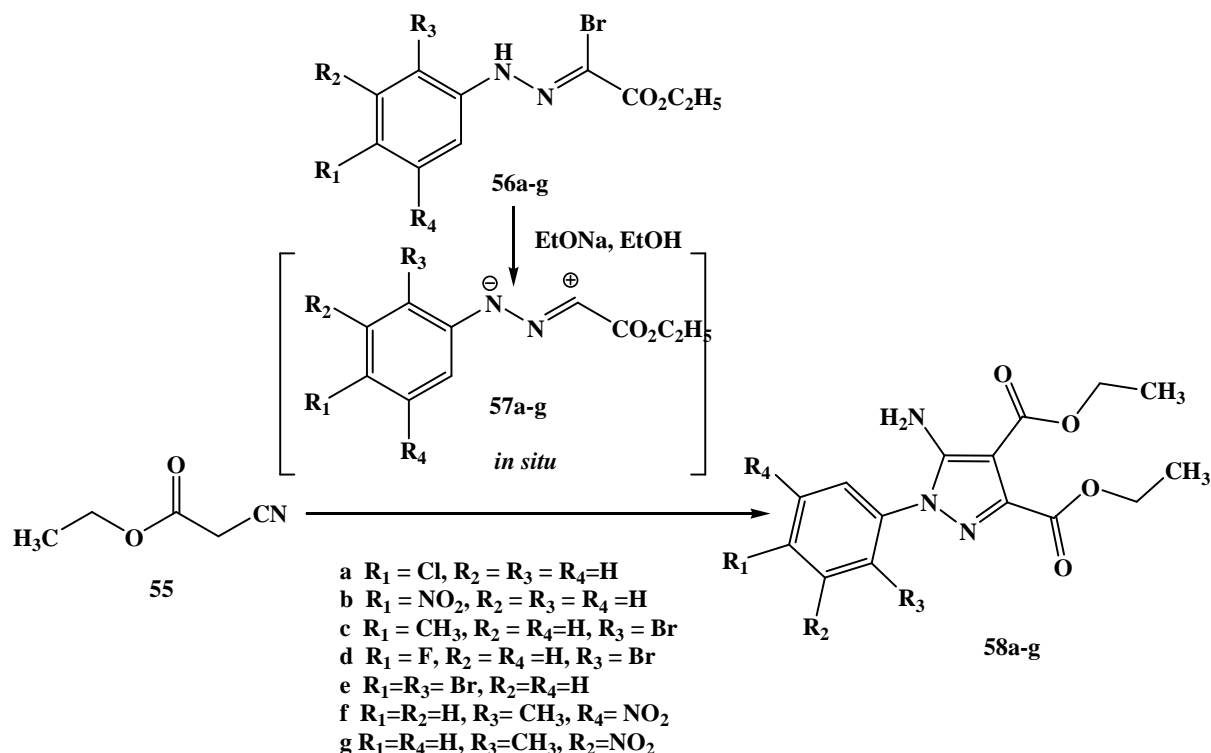


Schéma 18

Les structures des composés **58a-g** sont déterminées sur la base des données spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , IR et MS.

Par exemple, le spectre de RMN  $^1\text{H}$  du composé **58a** présente deux signaux à 1,33 ppm et 1,39 ppm correspondant aux protons des deux groupes méthyle des deux fonctions éthoxy associé au cycle pyrazolique, un signal à 5,40 ppm correspond aux protons du groupe  $\text{NH}_2$ , et les multiplets dûs aux protons aromatique.

Dans le spectre IR du composé **58a**, on note en particulier deux bandes d'absorption à  $1725\text{ cm}^{-1}$  et  $1696\text{ cm}^{-1}$ , qui correspondent aux groupements carbonyles de la fonction ester.

Dans les figures 4, 5 et 6 nous présentons quelques exemples de spectres RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et DEPT des composés **58a**, **58b** et **58c**.

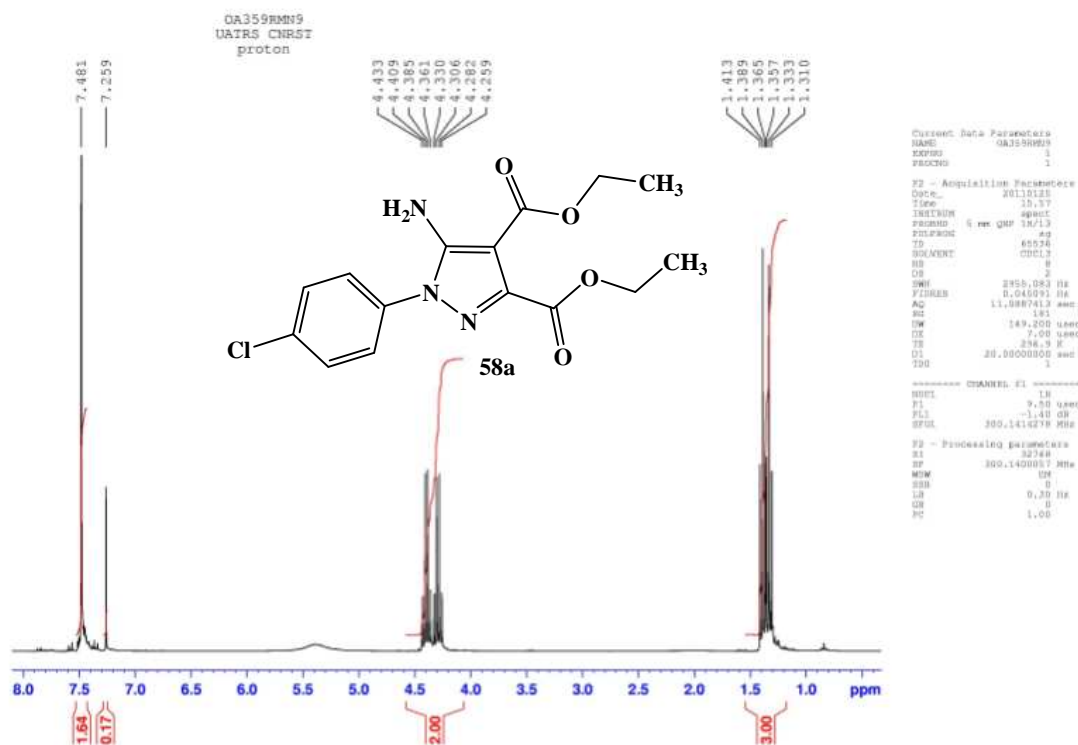


Figure 4a: Spectre RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) du composé 58a

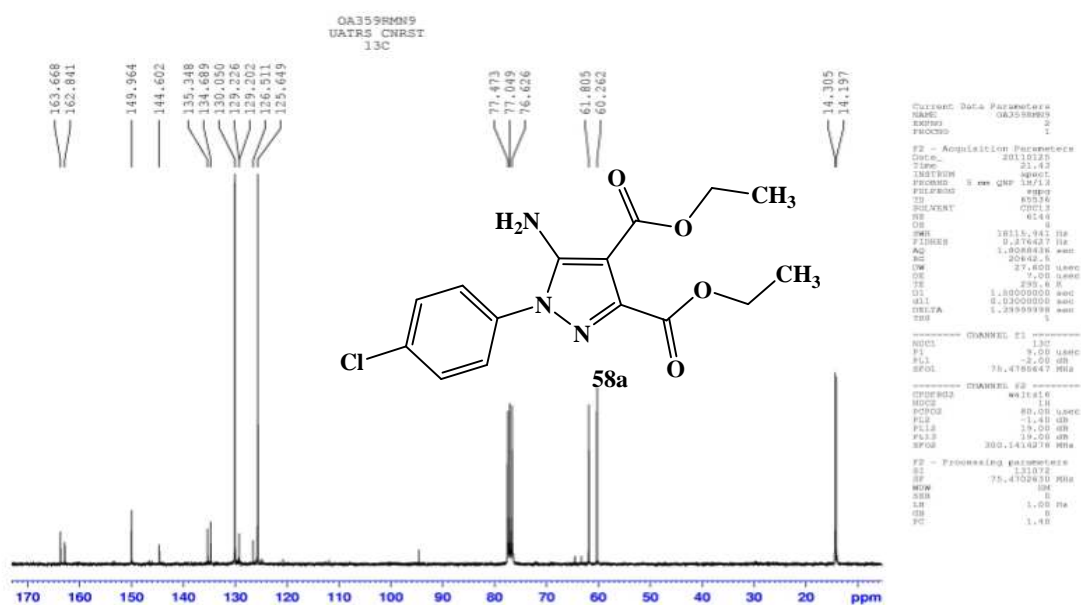


Figure 4b : Spectre RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) du composé 58a

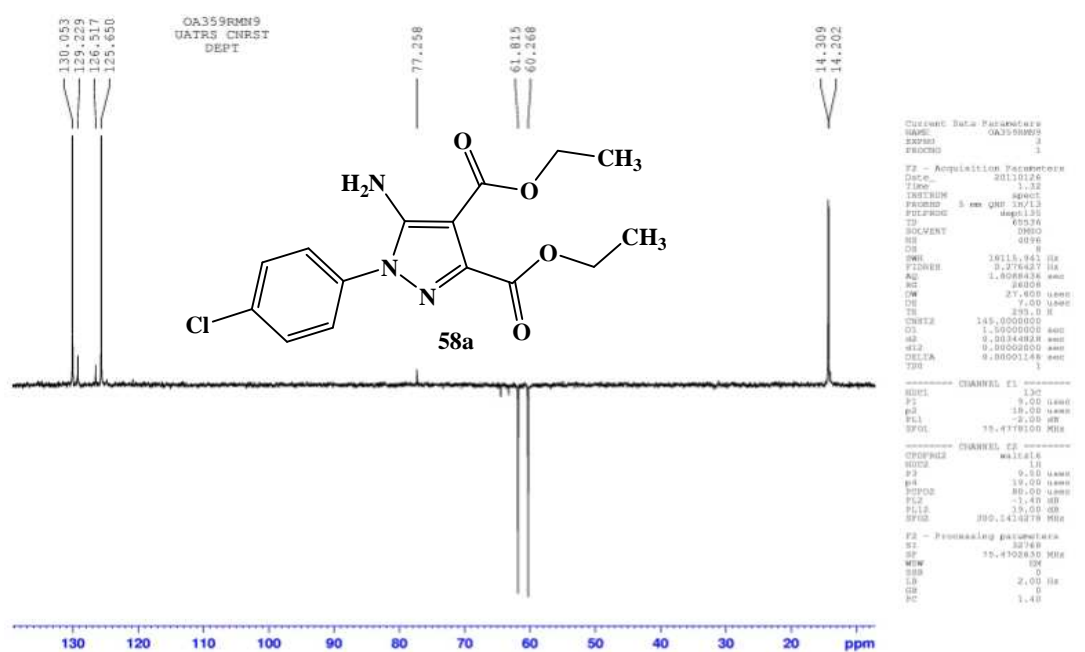


Figure 4c : Spectre RMN<sup>13</sup>C (DEPT) du composé 58a

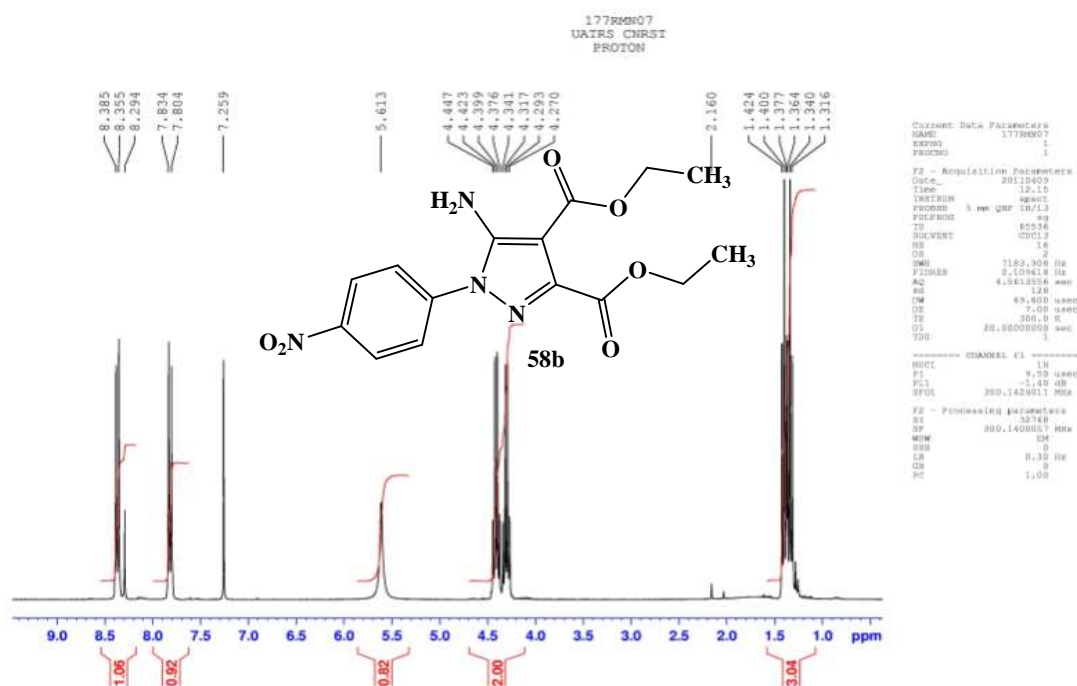


Figure 5a: Spectre RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) du composé 58b

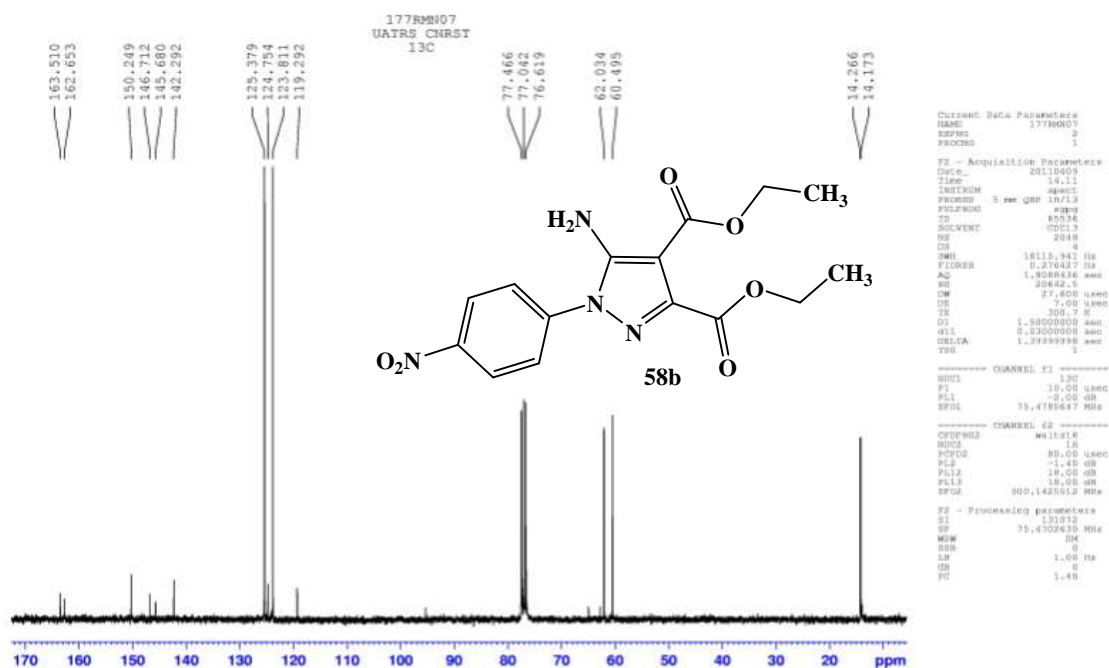


Figure 5b : Spectre RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) du composé 58b

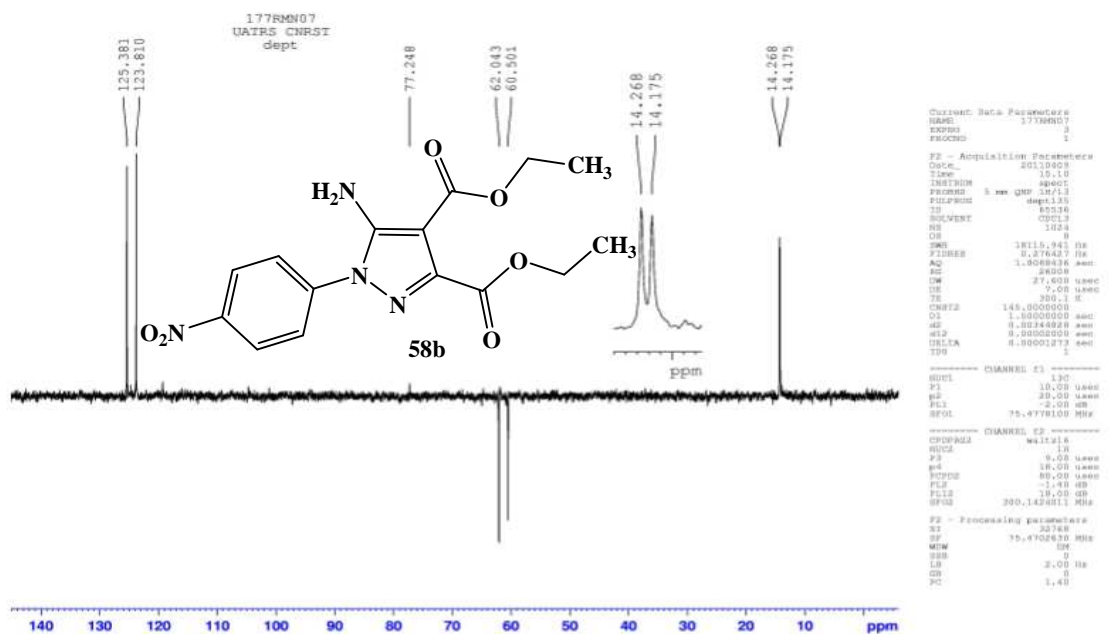


Figure 5c : Spectre RMN<sup>13</sup>C (DEPT) du composé 58b

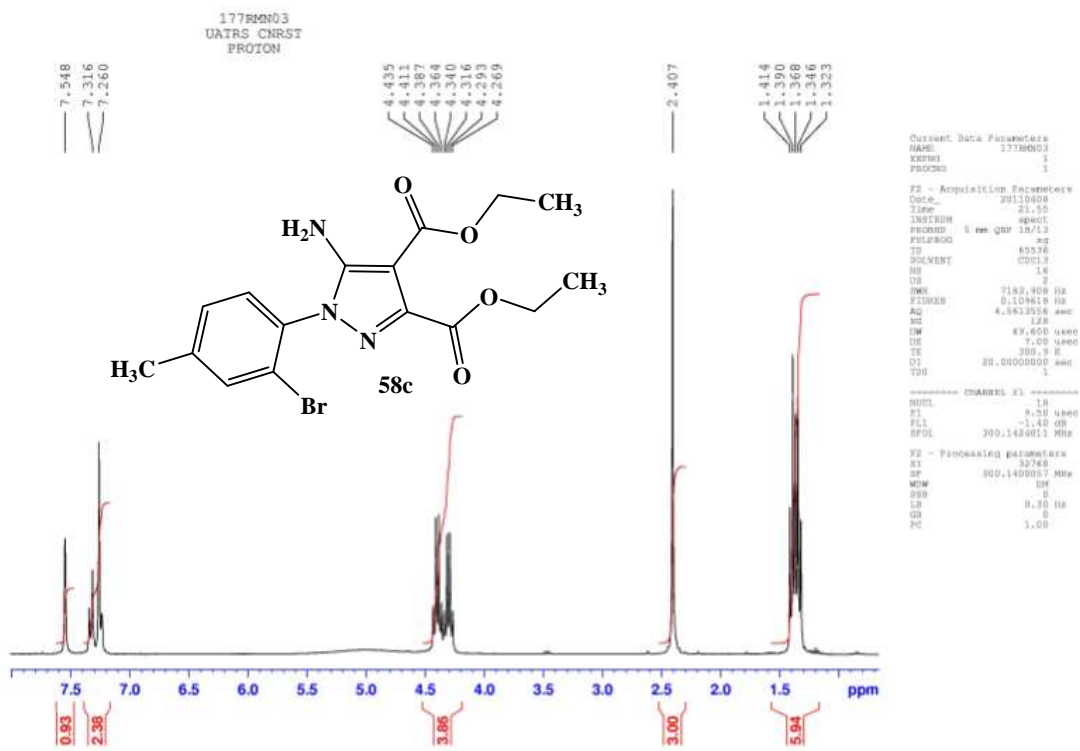


Figure 6a: Spectre RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) du composé **58c**

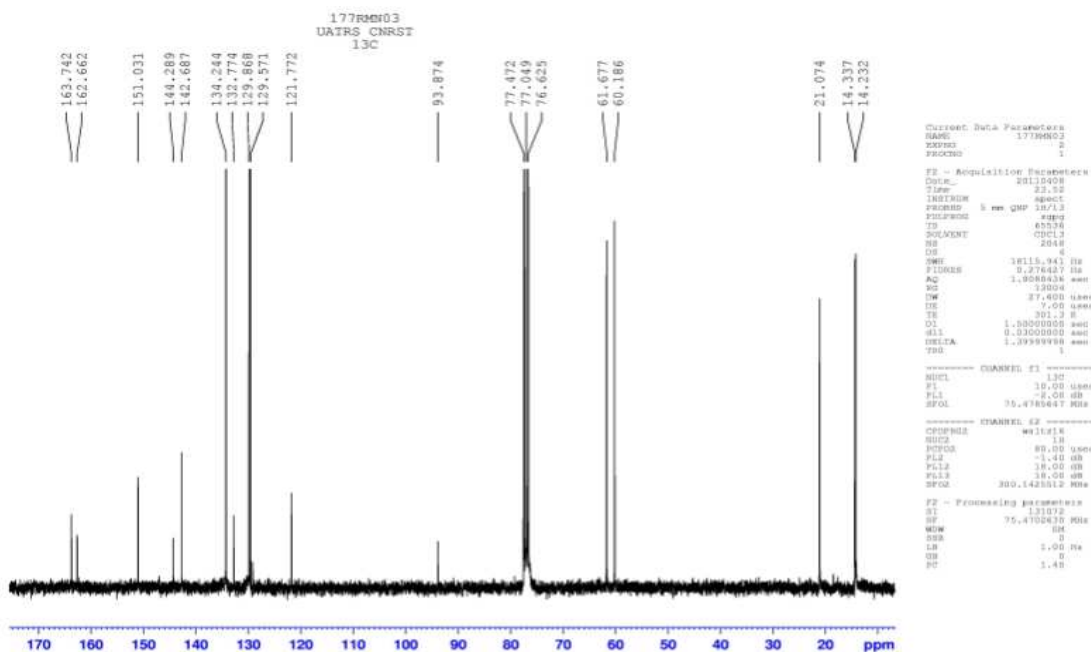


Figure 6b : Spectre RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) du composé **58c**

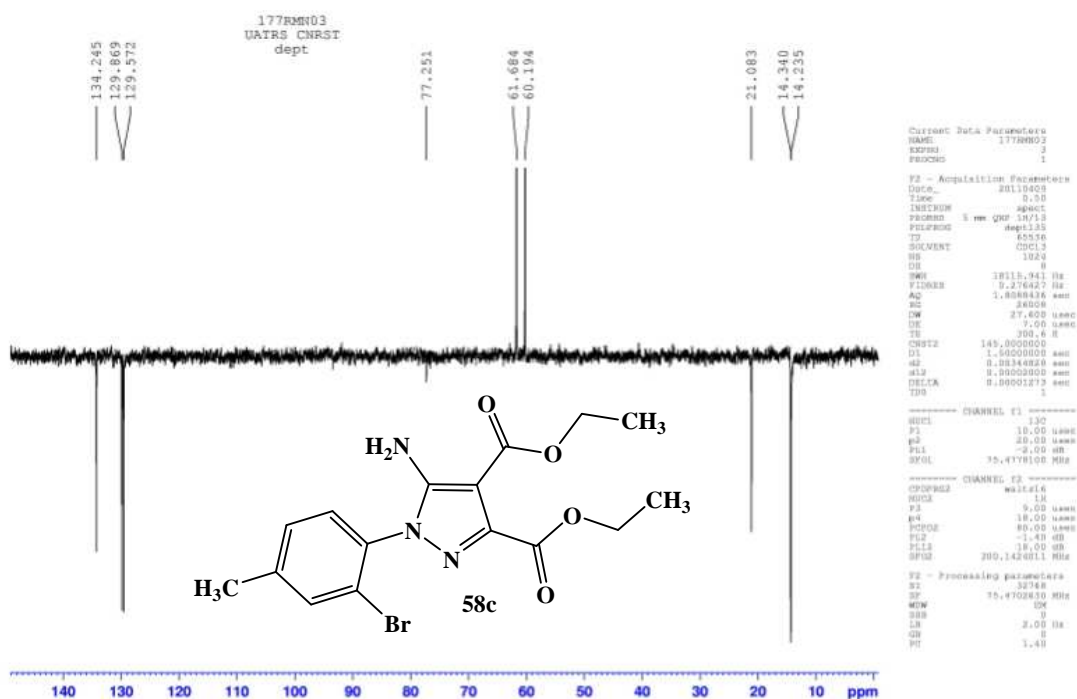


Figure 6c : Spectre RMN<sup>13</sup>C (DEPT) du composé **58c**

Pour expliquer la formation des diéthyl 5-amino-1-(aryl)-1*H*-pyrazole-3,4-di carboxylates **58a-g**, nous avons proposé le mécanisme suivant: le stade initial de la réaction correspond à l'attaque nucléophile du groupe méthylène de l'éthyle cyanoacétate sur *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrile imine et conduit à l'intermédiaire **A**. La cyclisation intramoléculaire de **A** donne l'intermédiaire **B** qui subit une aromatisation en présence de l'éthanoate de sodium pour aboutir aux composés escomptés **58a-g**.

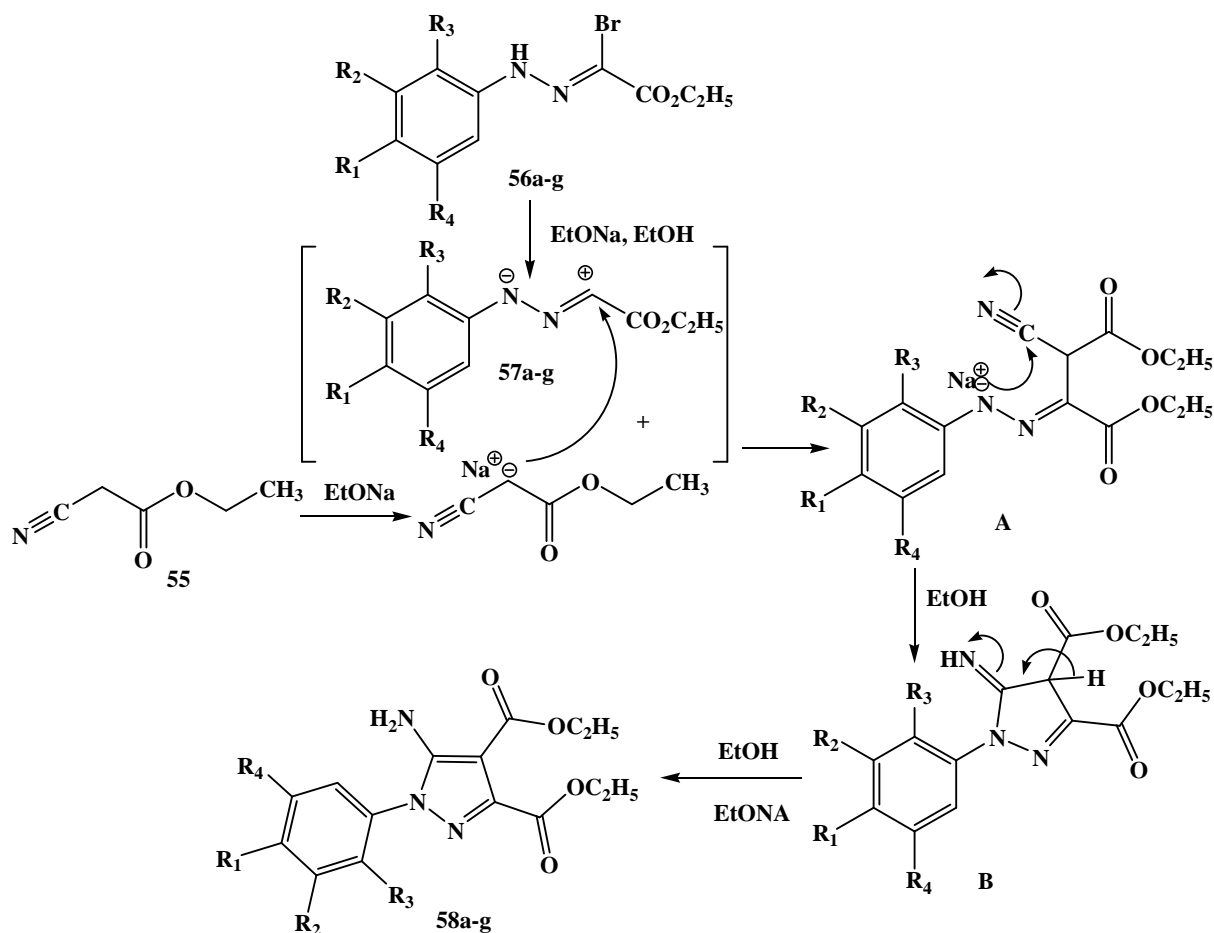


Schéma 19

### III- Réaction des dérivés de l'aminopyrazole avec l'hydrazine

L'aminopyrazole synthétisé précédemment présente plusieurs centres réactifs tels que les deux fonctions ester et le groupe amine. Leur présence confère à ce produit d'être un précurseur important pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques biologiquement actifs. C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à étudier la réactivité des aminopyrazoles **58a,d** vis-à-vis de l'hydrazine à reflux de l'éthanol. Cette réaction nous a permis d'obtenir des pyrazolopyridazinediones **59a,d** avec de bons rendements (schéma 20).

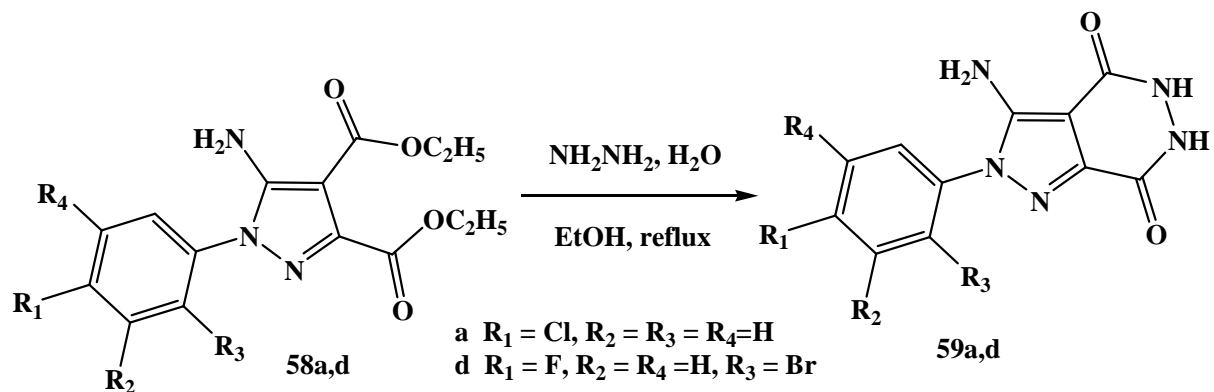


Schéma 20

Les structures des composés **59a,d** ont été établies sur la base des données spectrales RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C et IR.

Dans le spectre IR du composé **59a**, on note en particulier l'absence de deux bandes d'absorptions à 1725 cm<sup>-1</sup> et 1696 cm<sup>-1</sup> caractéristiques du groupement carbonyle C=O de la fonction ester. Ce qui confirme la formation du cycle pyridazinedione.

Le spectre RMN<sup>1</sup>H de **59a** présente deux signaux larges à 10.05 ppm et 12.11 ppm dûs aux protons du groupe NH.

Dans la figure 7 nous présentons un exemple de spectres RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C et DEPT du composé **59a**.

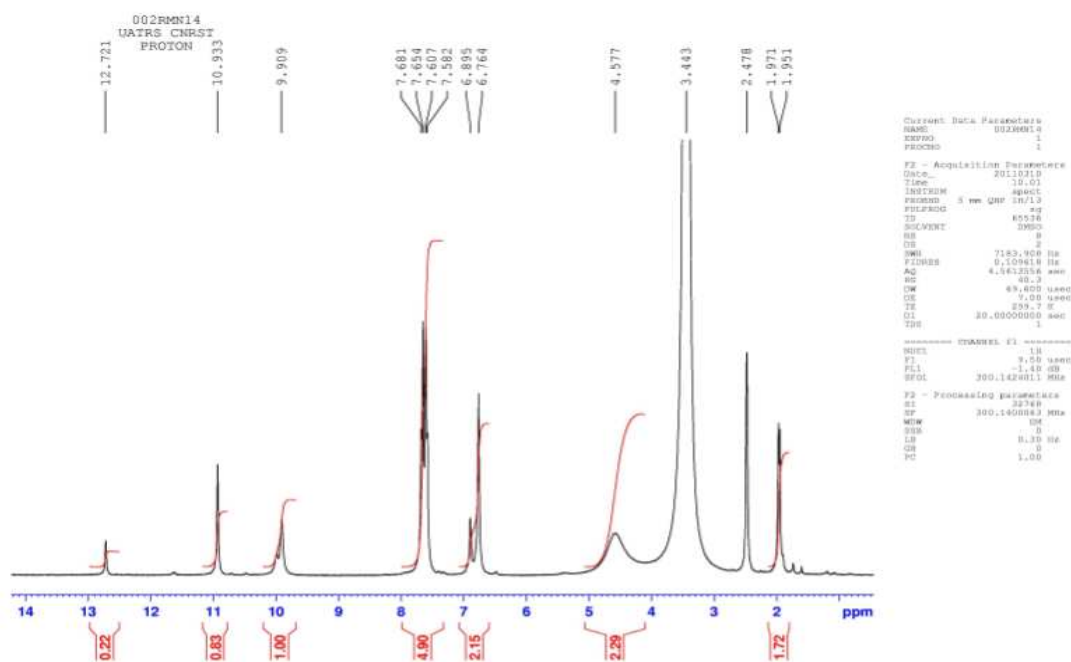


Figure 7a : Spectre RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz) du composé **59a**



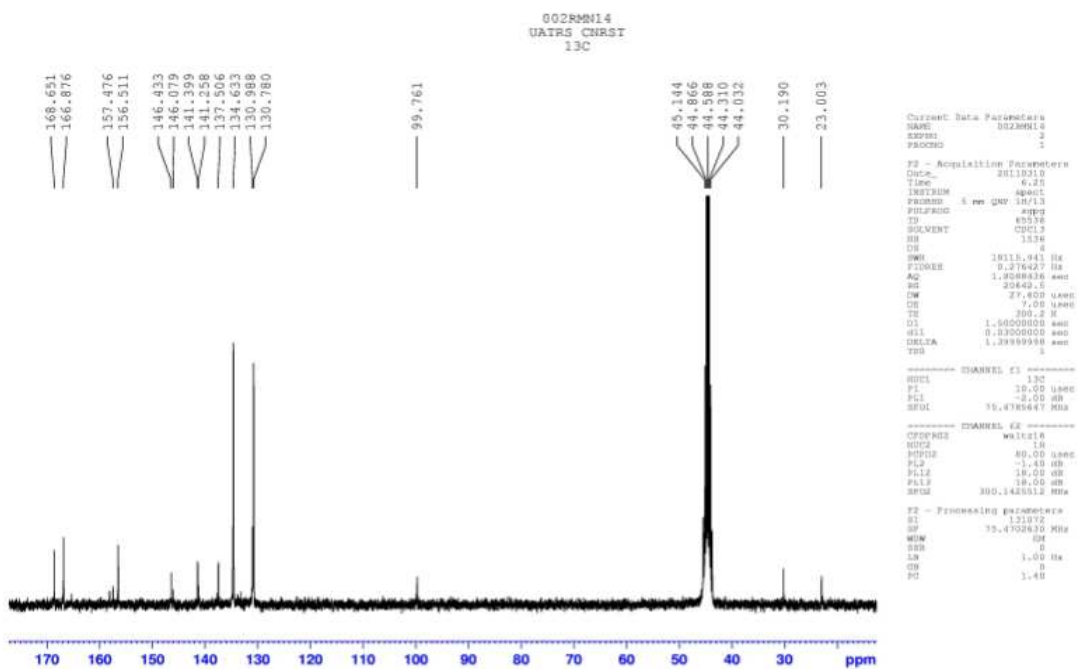


Figure 7b : Spectre RMN<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 75 MHz) du composé 59a

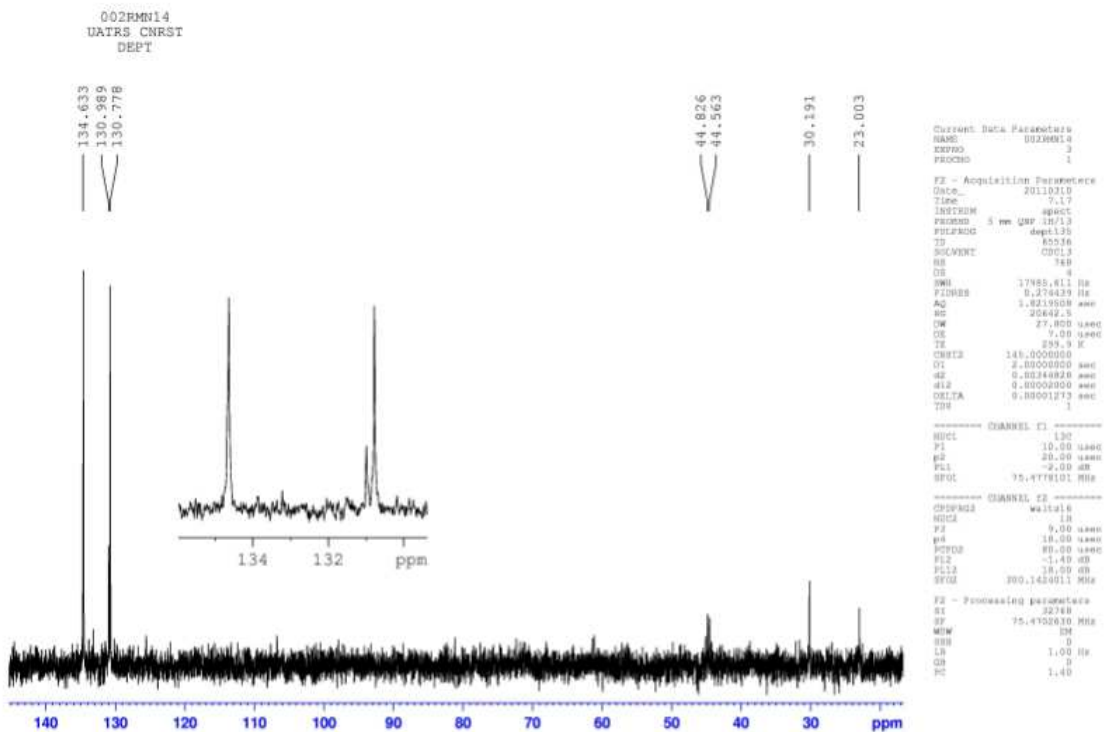


Figure 7c : Spectre RMN<sup>13</sup>C (DEPT) du composé 59a

## **IV- Evaluation biologiques des diéthyl 5-amino-1-(aryl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylates**

### **IV-1- Matériels et méthodes**

L'activité cytotoxique a été étudiée vis-à-vis de la lignée P815 (lignée cellulaire de mastocytome murin) en utilisant un dosage colorimétrique MTT décrit et modifié par Tim Mossman [49]. Les cellules ont été lavées par centrifugation dans du PBS (Phosphate-Buffered Saline), et incubées dans des plaques de microtitration à 96 puits (Bioster Italie) à une densité de  $1,5 \times 10^5$  cellules / ml dans 100  $\mu$ l par puits de milieu de culture (D-MEM) supplémenté avec 5% de sérum de veau fœtal, 100UI / ml de pénicilline, 100  $\mu$ g / ml de streptomycine, et du bicarbonate de sodium à 0,2%. Ensuite, 100  $\mu$ l du milieu de culture frais contenant des concentrations de série appropriées des composés testés ont été ajoutés dans chaque puits. Après incubation pendant 48 h à 37 ° C et 5% de CO<sub>2</sub>, 100  $\mu$ l de milieu ont été soigneusement aspiré de chaque puits et remplacés par 20  $\mu$ l de la solution MTT (5 mg / ml de PBS). Après incubation pendant 4 h dans les mêmes conditions, les plaques ont été traitées avec un mélange de HCl / Isopropanol (24:1) pour dissoudre le bleu intracellulaire formazan. Une heure plus tard, la densité optique dans les puits a été lue sur un lecteur microElisa en utilisant le mode à double longueur d'onde (540-630 nm). La cytotoxicité (%) =  $100 \times (1 - D_t/D_o)$ , où D<sub>o</sub>O et D<sub>t</sub>O sont respectivement la densité optique de contrôle et la densité traités des puits. Trois ensembles indépendants d'expériences effectuées en double ont été évalués.

### **IV-2- Résultats des tests de cytotoxicité**

L'évaluation in vitro de l'effet cytotoxique des aminopyrazoles synthétisés est déterminée en utilisant la lignée cellulaire mastocytome murin P815.

Les molécules testées contre la lignée cellulaire tumorale P815 sont regroupés dans la figure suivante :

---

[49] T. Mossman. *J. Immunol. Meth.*, **1983**, Vol. 65(1-2), 55.

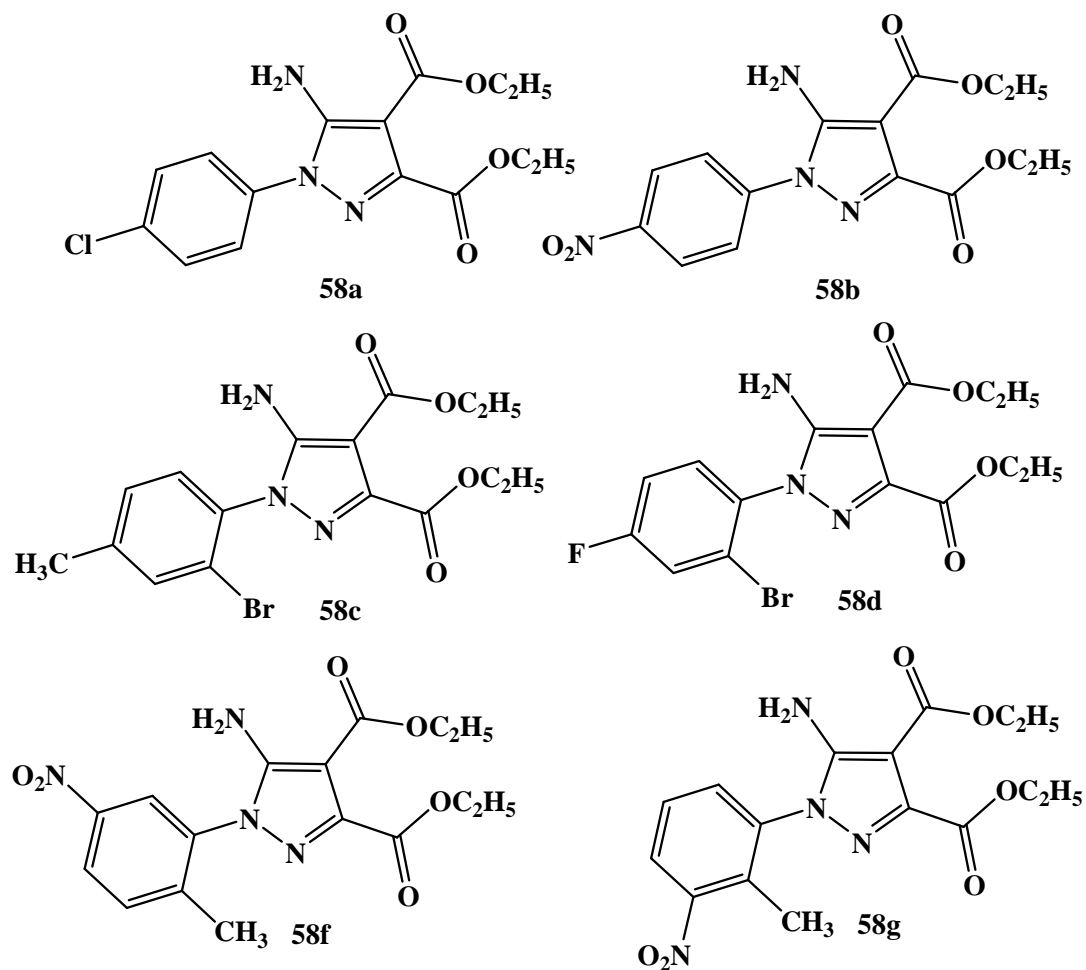


Figure 8 : Structures pyrazoliques testées contre la lignée cellulaire tumorale P815

Les résultats des activités cytotoxiques préliminaires des aminopyrazoles **58a-d** et **58f-g** contre la lignée de cellule de mastocytome murin P815 sont répertoriés dans le tableau 1.

Tableau 1: Cytotoxicité in vitro de nouveaux pyrazoles tétrasubstitués vis-à-vis de la lignée cellulaire P815

Composé	R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> , R <sub>4</sub>	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>58a</b>	R <sub>1</sub> = Cl, R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =H	32
<b>58b</b>	R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =H	105
<b>58c</b>	R <sub>1</sub> =CH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> =R <sub>4</sub> =H, R <sub>3</sub> =Br	75
<b>58d</b>	R <sub>1</sub> = F, R <sub>2</sub> = R <sub>4</sub> =H, R <sub>3</sub> =Br	98
<b>58f</b>	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =CH <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> =NO <sub>2</sub>	110
<b>58g</b>	R <sub>1</sub> =R <sub>4</sub> =H, R <sub>3</sub> =CH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> =NO <sub>2</sub>	107

La  $IC_{50}$  représente la concentration du médicament en ( $\mu\text{g/ml}$ ) pour inhiber la croissance cellulaire de 50%.

Les pyrazoles tétra-substituées **58a**, **58c** et **58d** montrent des activités cytotoxiques significatives contre la lignée cellulaire P815. Le composé **58a** ( $R_1 = \text{Cl}$ ) présente une activité cytotoxique notable avec une concentration inhibitrice de  $IC_{50} = 32 \mu\text{g/mL}$ . Les composés **58b**, **58f** et **58g** présentent des activités cytotoxiques faibles.

Ces résultats montrent que, la nature du substituant greffé au cycle benzénique a un effet important au niveau de l'activité cytotoxique des dérivés de l'aminopyrazole **58a-g**. La présence des atomes d'halogène sur l'homocycle benzène confère aux structures pyrazoliques des activités cytotoxiques prometteuses.

## V- Conclusion

Après avoir décrit un aperçu bibliographique sur l'intérêt de l'utilisation des halogénures d'hydrazonoyle en tant que précurseurs pour accéder à la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques dérivés de la pyrazole à propriétés pharmacologiques potentielles, et dans la continuité de ces travaux de recherche, nous avons développé avec une approche simple, une nouvelle série de pyrazole-3,4-dicarboxylates **58a-g** par cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines avec le cyanoacétate d'éthyle. Les aminopyrazoles synthétisés présentent des sites réactifs potentiels. Leur réactivité vis-à-vis de l'hydrazine nous a permis de préparer de nouvelles pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-diones. L'activité cytotoxique *in vitro* des pyrazoles tétrasubstitués a été évaluée et a montré une activité cytotoxique significative vis-à-vis de la lignée cellulaire murine de mastocytome P815. Le composé **58a** ( $R_1 = \text{Cl}$ ) a montré une activité notable vis-à-vis de la lignée cellulaire P815 ( $IC_{50} = 32 \mu\text{g/mL}$ ). Le composé **58a** peut être utilisé comme un élément clé pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

## **VI- Partie expérimentale**

### **Caractéristiques physico-chimiques et spectrales des composés synthétisés**

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

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés dans  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  et solution (sauf indication contraire) avec TMS comme référence interne en utilisant un appareil Bruker AC 300 (1H) ou 75MHz instruments ( $^{13}\text{C}$ ). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. La multiplicité des ressources de RMN  $^{13}\text{C}$  a été affectée par la mise en valeur sans distorsion par transfert des expériences de polarisation (DEPT).

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

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

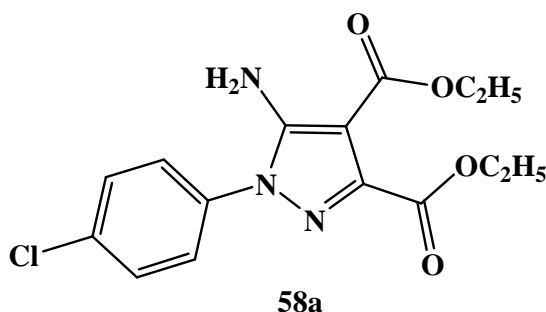
La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E.Merck 60 F254 (épaisseur 0,063-0.2 mm). La révélation des taches se fait sous une lampe UV. Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice.

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

### Synthèse des pyrazoles tétrasubstitués 58a-g.

**Mode opératoire :** A une solution de cyanoacétate d'éthyle **55** (0,56 g, 0,005 mol) et l'éthyl hydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylate **56a-g** (0,005 mol) dans l'éthanol anhydre, on ajoute l'éthanoate de sodium (0,68 g, 0,01 mole). Le mélange est agité à température ambiante jusqu'à la formation d'un précipité. Ce dernier est filtré, lavé avec de l'eau froide et séché puis purifié par chromatographie de gel de silice sur colonne (EtOAc/hexane 2/8) pour accéder aux aminopyrazoles purs **58a-g**.

#### Diéthyl 5-amino-1-(4-chlorophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate **58a**



**Rdt** = 56 %.

**PF** = 95-97 °C.

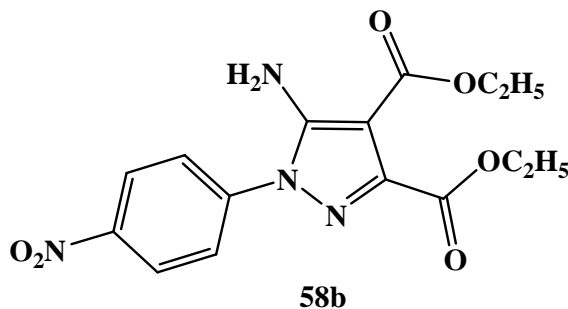
**IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3405, 3328 ( $\text{NH}_2$ ), 1725 (CO), 1696 (CO), 1622 (C=N).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1.33 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.29 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.40 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.48 (d, 2H,  $J = 7.8$  Hz), 7.51 (d, 2H,  $J = 7.8$  Hz).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.3 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 125.6 (2CH), 129.0 (C), 129.2 (2CH), 134.6 (C), 135.3 (C), 144.6 (C), 150.0 (C), 162.8 (CO), 163.7 (CO).

**SM  $m/z$**  = 338 [ $M+1$ ], 340 [ $M+3$ ].

#### Diéthyl 5-amino-1-(4-nitrophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate **58b**



Rdt = 46 %.

PF = 138-140 °C.

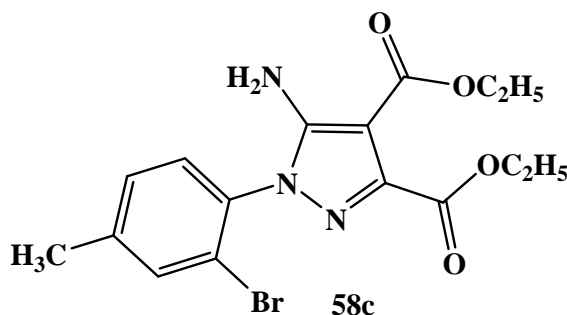
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3397, 3317 ( $\text{NH}_2$ ), 1728 (CO), 1690 (CO), 1622 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.38 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.40 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.61 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.81 (d, 2H,  $J=8.0$  Hz), 8.36 (d, 2H,  $J=8.0$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.5 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 62.1 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 119.3 (C), 123.8 (2CH), 124.7 (C), 125.4 (2CH), 142.3 (C), 146.7 (C), 150.2 (C), 162.6 (CO), 163.5 (CO).

SM  $m/z = 349$  [M+1].

Diéthyl 5-amino-1-(2-bromo-4-méthylphényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate 58c



Rdt = 45%.

PF = 93-95 °C.

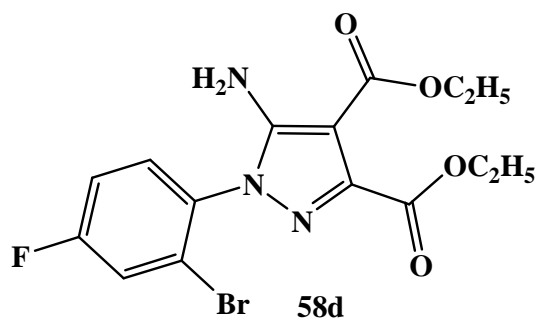
IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3445, 3335 ( $\text{NH}_2$ ), 1730 (CO), 1690 (CO), 1616 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 2.40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.01 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.28 (m, 2H), 7.55 (d, 1H,  $J=1.8$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 60.2 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.7 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 93.9 (C), 121.8 (C), 129.6 (CH), 129.9 (CH), 132.7 (C), 134.2 (CH), 142.7 (C), 144.3 (C), 151.0 (C), 162.6 (CO), 163.7 (CO).

SM  $m/z = 397$  [M+1], 399 [M+3].

**Diéthyl 5-amino-1-(2-bromo-4-fluorophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate 58d**



**Rdt** = 51%.

**PF** = 105-107 °C.

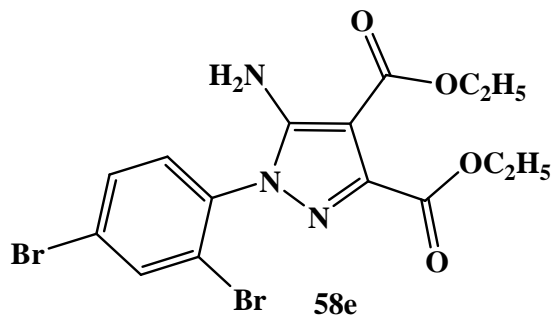
**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3430, 3354 (NH<sub>2</sub>), 1718 (CO), 1697 (CO), 1621 (C=N).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.35 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 1.39 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 4.30 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.2 Hz), 4.39 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.2 Hz), 5.18 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.19 (m, 1H), 7.46 (m, 2H).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):** δ 14.2 (CH<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub>), 60.3 (CH<sub>2</sub>O), 61.8 (CH<sub>2</sub>O), 94.0 (C), 116.3 (CH), 121.4 (CH), 123.2 (C), 131.7 (CH), 144.6 (C), 151.1 (C), 161.1 (C), 162.2 (C), 163.6 (CO), 164.7 (CO).

**SM m/z** = 401 [M+1], 403 [M+3].

**Diéthyl 5-amino-1-(2,4-dibromophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate 58e**



**Rdt** = 40 %.

**PF** = 91-93 °C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3447, 3333 (NH<sub>2</sub>), 1737 (CO), 1693 (CO), 1610 (C=N).

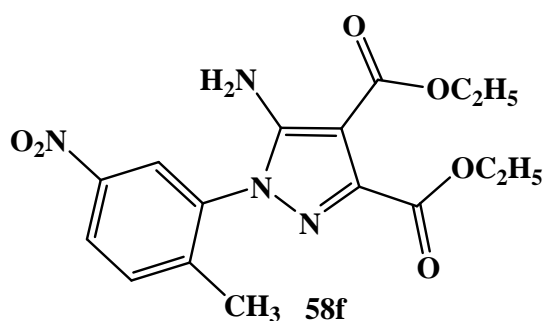
**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.35 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.0 Hz), 1.39 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.0 Hz), 4.30 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.0 Hz), 4.39 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.0 Hz), 5.24 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.33 (d, 1H, J = 7.8Hz), 7.61 (dd, 1H, J = 7.8 et 2.1Hz), 7.91 (d, 1H, J=2.1 Hz).



**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):** δ 14.2 (CH<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub>), 60.3 (CH<sub>2</sub>O), 61.8 (CH<sub>2</sub>O), 94.1 (C), 123.1 (C), 125.2 (C), 131.3 (CH), 132.2 (CH), 134.6 (C), 136.4 (CH), 144.8 (C), 150.9 (C), 162.5 (CO), 163.6 (CO).

**SM m/z** = 462 [M+1], 464 [M+3].

**Diéthyle 5-amino-1-(2-méthyl-5-nitrophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate 58f**



**Rdt** = 49 %

**PF** = 96-98 °C

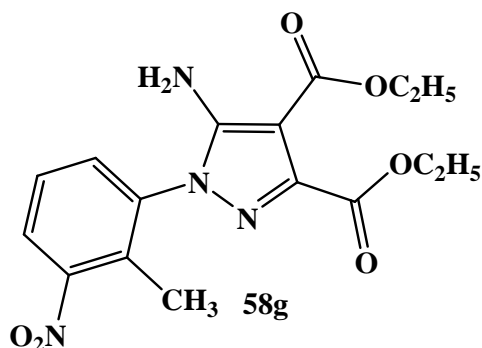
**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3443, 3331 (NH<sub>2</sub>), 1731 (CO), 1691 (CO), 1617 (C=N).

**RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.35 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 1.39 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.2 Hz), 2.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.32 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.2 Hz), 4.40 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>, J = 7.2 Hz), 5.20 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.55 (d, 1H, J=7.1 Hz), 8.26 (m, 2H).

**RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):** δ 14.2 (CH<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub>), 18.2 (CH<sub>3</sub>), 60.4 (CH<sub>2</sub>O), 61.9 (CH<sub>2</sub>O), 94.2 (C), 120.5 (C), 123.5 (CH), 125.1 (CH), 132.6 (CH), 135.6 (C), 144.7 (C), 146.8 (C), 150.8 (C), 162.4 (CO), 163.6 (CO).

**SM m/z** = 363 [M+1].

**Diéthyle 5-amino-1-(2-méthyl-3-nitrophényl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate 58g**



**Rdt** = 52%.

**PF** = 120-122 °C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3381, 3317 (NH<sub>2</sub>), 1716 (CO), 1695 (CO), 1626 (C=N).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1.35 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 2.29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.32 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.40 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.19 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.51 (t, 1H,  $J=7.5$ ), 7.62 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz), 8.02 (d, 1H,  $J = 7.5$ ).

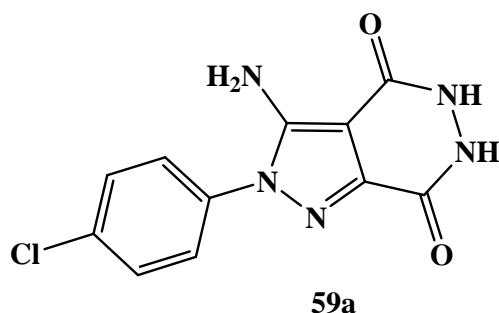
**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 18.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.4 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 94.1 (C), 126.2 (CH), 127.7 (CH), 132.4 (C), 132.7 (CH), 136.9 (C), 144.8 (C), 150.8 (C), 151.3 (C), 162.4 (CO), 163.6 (CO).

**MS  $m/z$  = 363 [M+1].**

### Synthèse des pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-diones

**Mode opératoire :** on dissout ( $12 \cdot 10^{-3}$  mole) de l'aminopyrazole **58a,d** et de l'hydrazine hydratée (0.6g,  $12 \cdot 10^{-3}$  mole) dans 30 ml de l'éthanol. Le mélange est porté à reflux pendant 8 heures. Après refroidissement, le mélange réactionnel est versé sur la glace. Le solide obtenu est filtré, séché et cristallisé dans l'éthanol.

#### 3-Amino-2-(4-chlorophényl)-5,6-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-dione **59a**



**Rdt = 94%.**

**PF = 167-169°C.**

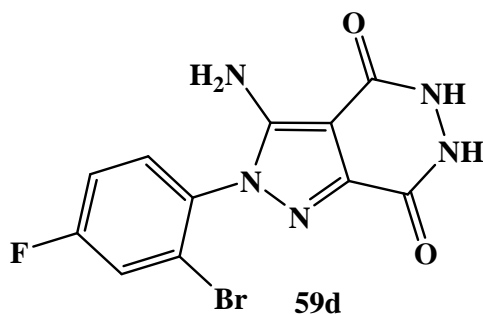
**IR ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3380, 3345 ( $\text{NH}$ ,  $\text{NH}_2$ ), 1665 (CO), 1670 (CO).

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):**  $\delta$  6.46 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.54 (d, 2H,  $J=8.1$  Hz), 7.62 (d, 2H,  $J=8.1$  Hz); 10.05 (s, 1H, NH), 12.11 (s, 1H, NH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):**  $\delta$  93.2 (C), 126.3 (2CH), 129.9 (2CH), 132.7 (C), 136.7 (C), 147.5 (C), 150.8 (C), 159.4 (C), 163.7 (C).

**SM  $m/z$  = 278 [M+1], 280 [M+3].**

**3-Amino-2-(2-bromo-4-fluorophényl)-5,6-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-dione 59d**



**Rdt** = 86%.

**PF** = 178-180 °C.

**IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3385, 3360 (NH, NH<sub>2</sub>), 1652 (CO), 1670 (CO);

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 6.82 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.46 (dd, 1H, J = 8.4 and 2.7 Hz), 7.69 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.86 (d, 1H, J = 2.7 Hz), 10.39 (s, 1H, NH), 12.59 (s, 1H, NH);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 94.3 (C), 116.7 (CH), 121.4 (CH), 123.8 (C), 132.8 (CH), 141.1 (C), 153.0 (C), 154.3 (C), 159.4 (C), 160.3 (C), 162.5 (C), 164.6 (C).

**SM m/z** = 341 [M+1], 343 [M+3].

## **Conclusion générale**

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à préparer de nouveaux systèmes hétérocycliques (triazolopyridazinones, spirothiadiazolopyridazines et 5-amino-1-aryl-1*H*-pyrazole-3,4-dicarboxylates) à visée anticancéreuse potentielle à partir des halogénures d'hydrazonoyle (*N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines).

Dans le premier chapitre, nous avons montré l'importance de l'halogénure d'hydrazonoyle en tant que précurseur pour la synthèse de divers systèmes hétérocycliques à propriétés pharmacologiques potentielles. Ce synthon permet d'accéder en une seule étape à la synthèse des systèmes hétérocycliques difficiles à préparer par d'autres voies de synthèse.

Dans le deuxième chapitre, nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2*H*)-one et de son homologue pyridazinethione avec les *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines. Ces derniers sont des précurseurs importants pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type triazolopyridazinones et spirothiadiazolopyridazines.

Dans le cas de la pyridazinone, l'addition du dipôle a été effectuée préférentiellement sur la double liaison carbone-azote pour la pyridazin-3(2*H*)-one et conduit à un mélange racémique de deux isomères de type triazolopyridazinoes avec des proportions variés.

Dans le cas de la pyridazinethione, l'addition du dipôle s'effectue de préférence sur la double liaison thioxo et conduit à un seul cycloadduit de type spirothiadiazolopyridazine. La réaction est péri- et régioselective car seulement la double liaison C=S qui a été affectée et le sens d'addition est unique.

L'oxyde de mésitonitrile utilisé en tant que dipôle-1,3 et qui est différent de *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimine, s'additionne préférentiellement sur la double liaison carbone-soufre. Cependant, en aucun cas il nous a été possible d'isoler le cycloadduit de type spiro à cause de l'instabilité de l'oxathiadiazolopyridazine. Ce dernier évolue rapidement vers la formation du pyridazin-3-one et l'isothiocyanate.

Pour valoriser les résultats obtenus, des tests biologiques ont été réalisés sur quelques produits afin d'évaluer, *in vitro*, leur potentiel antitumoral. D'après les résultats, on constate que l'insertion d'un atome de soufre n'a pas seulement un effet sur la réactivité, mais aussi elle améliore l'activité biologique. Dans la série des spirothiadiazolopyridazines on note une activité significative qui varie en fonction du groupement en position para du cycle benzénique. La molécule ou le cycle benzénique est substitué par un atome de chlore présente une concentration inhibitrice assez intéressante vis-vis de la lignée cellulaire P388 (IC<sub>50</sub> = 9,24±2,66).

La réaction de cyanoacétate d'éthyle avec *N*-aryl C-éthoxycarbonyl nitrilimines a fait l'objet du troisième chapitre. Après avoir décrit un aperçu bibliographique sur l'intérêt de l'utilisation des halogénures d'hydrazonoyles en tant que précurseurs pour accéder à la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques dérivés de la pyrazole à propriétés pharmacologiques potentielles, et dans la continuité de ces travaux de recherche, nous avons développé avec une approche simple, la synthèse d'une nouvelle série de pyrazole-3,4-dicarboxylates par cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-C-éthoxycarbonyl nitrilimines avec le cyanoacétate d'éthyle. Les aminopyrazoles synthétisés présentent des sites réactifs potentiels. Leur réactivité vis-à-vis de l'hydrazine nous a permis de préparer de nouvelles pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-diones. L'activité cytotoxique *in vitro* des pyrazoles tétrasubstitués a été évaluée et a montré une activité anticancéreuse significative vis-à-vis de la lignée cellulaire murine de mastocytome P815. Le composé ou le cycle du benzène est substitué par un atome de chlore a montré une activité notable vis-à-vis de la lignée cellulaire P815 ( $IC_{50} = 32 \mu\text{g/mL}$ ). Ce composé peut être utilisé comme un élément clé pour le développement de nouveaux agents anticancéreux.

## **ANNEXE : PUBLICATIONS**

## Synthesis and *in Vitro* Cytotoxic Activity of Novel Pyrazole-3,4-dicarboxylates

Hanan Sekkak, El Mostapha Rakib<sup>\*</sup>, Medaghri-Alaoui Abdelouahid, Abderrafia Hafid, Abdelghani El Malki

Laboratoire de Chimie Organique et Analytique, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal, Morocco  
 Email: \*elmostapha1@gmail.com

Received January 4, 2013; revised February 5, 2013; accepted March 1, 2013

### ABSTRACT

*N*-Aryl-*C*-ethoxycarbonylnitrile imines (**3a-g**) react with ethyl cyanoacetate **1** in 1,3-dipolar cycloaddition to yield novel pyrazole-3,4-dicarboxylates (**4a-g**) in moderate yields. The reaction of pyrazole-3,4-dicarboxylates (**4a, d**) with hydrazine afforded pyrazolo[4,3-*d*]pyridazine-4,7-diones (**5a, d**) in good yields. All compounds were fully characterized by spectroscopic methods. Some of the newly synthesized compounds were evaluated for their cytotoxic activity against murine P815 mastocytoma cell line.

**Keywords:** Nitrile Imines; Cycloaddition; Pyrazoles; Cytotoxic Activity

### 1. Introduction

Pyrazole and its derivatives, occupy an important position in medicinal chemistry with a wide range of bioactivities. They possess anti-obesity [1], receptor antagonists [2], HIV reverse transcriptase inhibitors [3], and anti-hyperglycemic activities [4]. They are also used as anti-inflammatory [5,6], antipyretic [7], antiarrhythmic [8], antitumor [9,10], monoamine oxidase inhibiting [11] and antibacterial agents [12]. Considering the important biological properties of pyrazole compounds, numerous methods toward pyrazoles syntheses have been developed over the past decades [13-17]. Despite numerous diverse approaches toward syntheses of pyrazoles developed so far, it is still challenging to prepare polysubstituted pyrazoles with various substituents from readily available building blocks. Herein we report a facile approach to provide polysubstituted pyrazoles via 1,3-dipolar cycloaddition of ethyl cyanoacetate with *N*-Aryl-*C*-ethoxycarbonylnitrile imines. Evaluation of their cytotoxic activity toward cell line P815 is reported.

### 2. Results and Discussion

#### 2.1. Chemistry

The ethyl hydrazone- $\alpha$ -bromoglyoxylates (**2a-g**) (Figure 1) selected to generate the corresponding *N*-aryl-*C*-ethoxycarbonylnitrile imines were prepared from the reaction of the adequate diazonium salts with ethyl acetoacetate.

<sup>\*</sup>Corresponding author.

tate, followed by bromination of the resulting azoacetic esters [18]. The nitrile imines were generated *in situ* by basic treatment of the hydrazone- $\alpha$ -bromoglyoxylates [19,20].

We performed the cycloaddition reaction of ethyl cyanoacetate with nitrile imines obtained initially *in situ* from the treatment of hydrazone- $\alpha$ -bromoglyoxylates with sodium ethoxide in dry ethanol at room temperature. The progress of the reaction was followed by TLC until all nitrilimines has been consumed. The overall reaction yielded a polysubstituted pyrazoles in moderate yields 40% - 56% (Scheme 1).

The structures of compounds (**4a-g**) were deduced from their IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and MS spectra. For example, the <sup>1</sup>H NMR spectrum of (**4a**) exhibited two signals at 1.33, 1.39 for the methyl of ethoxy group and a broad signal at 5.40 ppm for NH<sub>2</sub> group, along with multiplets for the aromatic protons at *N*-1 position of the pyrazolic cycle. In the IR spectrum of (**4a**), two absorption bands at 1725 and 1696 cm<sup>-1</sup>, which are related to

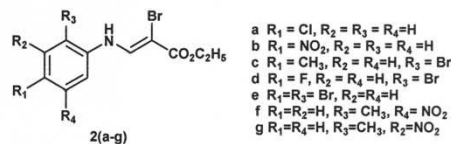
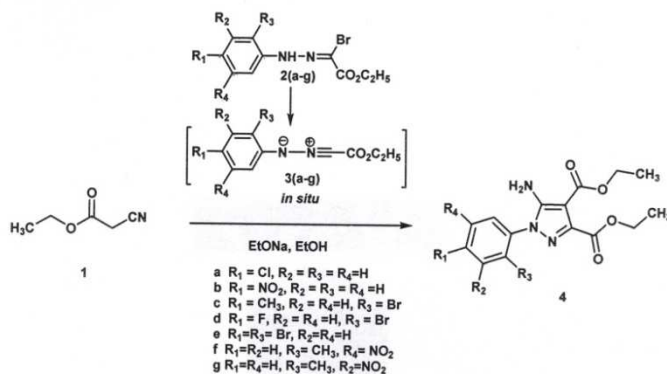


Figure 1. Structures of ethyl hydrazone- $\alpha$ -bromoglyoxylates used in this study as the precursors of *N*-aryl-*C*-ethoxycarbonylnitrile imines.





Scheme 1. Cycloaddition reaction of ethyl cyanoacetate with nitrile imines obtained.

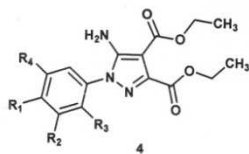
two C = O stretching frequencies, clearly indicated the most significant functional groups of the product.

Pyrazoles (4a-g) are suitable intermediates for the preparation of new pyrazolopyridazinedione derivatives. In fact, the reaction between hydrazine hydrate and pyrazoles (4a, d) afforded pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-diones (5a, d) in good yields (Scheme 2).

The structures of the synthesized compounds (5a, d) were established on the basis of IR,  $^1\text{H}$  NMR, and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data. In the IR spectra of compound (5a) the absence of the absorption band at  $1725\text{ cm}^{-1}$  and  $1696\text{ cm}^{-1}$ , for C = O ester confirms the formation of pyridazinedione cycle. The  $^1\text{H}$  NMR spectra of 5a exhibited two broad signals at  $\delta = 10.05$  and  $12.11$  ppm, respectively, due to the NH proton.

## 2.2. Cytotoxic Activity

The preliminary cytotoxic activities of some compounds against the murine P815 mastocytoma cell line were evaluated in vitro as shown in Table 1. The  $\text{IC}_{50}$  represents the drug concentration ( $\mu\text{g/mL}$ ) required to inhibit cell growth by 50%. The polysubstituted pyrazoles (4a), (4c) and (4g) have shown slight cytotoxic activity against cell line P815. Compound (4a) ( $R_1 = \text{Cl}$ ) showed significant activity against cell line P815 ( $\text{IC}_{50} = 32\ \mu\text{g/mL}$ ). It should be noted that the substituent at the position of benzene in compounds (4a-d), (4f), (4g) may also play an important role in determining relative activities.

Table 1. *In vitro* cytotoxicity of some new substituted pyrazoles against the murine mastocytoma cell line P815

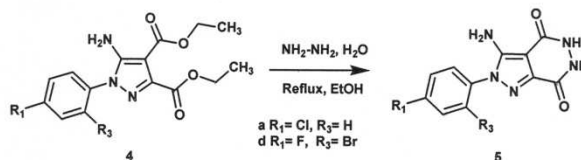
Compound	$R_1, R_2, R_3, R_4$	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
4a	$R_1 = \text{Cl}, R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$	32
4b	$R_1 = \text{NO}_2, R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$	105
4c	$R_1 = \text{CH}_3, R_2 = R_4 = \text{H}, R_3 = \text{Br}$	75
4d	$R_1 = \text{F}, R_2 = R_4 = \text{H}, R_3 = \text{Br}$	98
4f	$R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_3, R_4 = \text{NO}_2$	110
4g	$R_1 = R_4 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_3, R_2 = \text{NO}_2$	107

## 3. Conclusion

In summary, with a simple approach, a new series of pyrazole-3,4-dicarboxylates (4a-g) was synthesized by 1,3-dipolar cycloaddition of *N*-aryl-C-ethoxycarbonyl nitrile imines with ethyl cyanoacetate. Novel pyrazolo [4,3-d]pyridazine-4,7-diones were also prepared by condensation reaction of hydrazine with pyrazole-3,4-dicarboxylates. In vitro cytotoxicity of some compounds were assessed and showed a lower cytotoxicity on murine mastocytoma cell line P815. Pyrazole (4a) with chlorine atom substitution on pyrazole-3,4-carboxylate at para position of benzene group, showed significant activity against cell line P815 ( $\text{IC}_{50} = 32\ \mu\text{g/mL}$ ). Compound (4a) can be useful as a lead for the development of novel anticancer agents.

## 4. Experimental Section

Melting points were determined using a Büchi-Tottoli apparatus and are uncorrected. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer 577 spectrometer using KBr disks; only noteworthy IR absorptions are listed ( $\text{cm}^{-1}$ ).  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO}-d_6$  and



Scheme 2. The reaction between hydrazine hydrate and pyrazoles.

solution (unless otherwise specified) with TMS as an internal reference using a Bruker AC 300 ( $^1\text{H}$ ) or 75MHz ( $^{13}\text{C}$ ) instruments. Chemical shifts are given in  $\delta$  parts per million (ppm) downfield from TMS. Multiplicities of  $^{13}\text{C}$  NMR resources were assigned by distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT) experiments. Low-resolution mass spectra (MS) were recorded on a Perkin-Elmer Sciex API 3000 spectrometer. Column chromatography was carried out on  $\text{SiO}_2$  (silica gel 60 Merck 0.063 - 0.200 mm). Thin-layer chromatography (TLC) was carried out on  $\text{SiO}_2$  (silica gel 60, F 254 Merck 0.063 - 0.200 mm), and the spots were located with UV light. Commercial reagents were used without further purification unless stated.

**Synthesis of polysubstituted pyrazoles (4a-g).** To a solution of ethyl cyanoacetate **1** (0.56 g, 0.005 mol) and hydrazonyl bromides **2a-g** (0.005 mol) in dry ethanol, ethoxide sodium (0.68 g, 0.01 mol) was added. The mixture was stirred at room temperature for 12 h, during which the bromide dissolved and the crude pyrazole precipitated. The precipitate was filtered, washed with cold water, dried and purified by column chromatography (EtOAc/hexane 2/8).

**Diethyl 5-amino-1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4a).** Yield: 56%, mp: 95°C - 97°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3405, 3328 ( $\text{NH}_2$ ), 1725 (CO), 1696 (CO), 1622 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.33 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.29 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.40 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.48 (d, 2H,  $J = 7.8$  Hz), 7.51 (d, 2H,  $J = 7.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.3 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 125.6 (2CH), 129.0 (C), 129.2 (2CH), 134.6 (C), 135.3 (C), 144.6 (C), 150.0 (C), 162.8 (CO), 163.7 (CO); MS  $m/z = 338$  [ $M + 1$ ], 340 [ $M + 3$ ].

**Diethyl 5-amino-1-(4-nitrophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4b).** Yield: 46%, mp: 138°C - 140°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3397, 3317 ( $\text{NH}_2$ ), 1728 (CO), 1690 (CO), 1622 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.38 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.40 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.61 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.81 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz), 8.36 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.5 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 62.1 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 119.3 (C), 123.8 (2CH), 124.7 (C), 125.4 (2CH), 142.3 (C), 146.7 (C), 150.2 (C), 162.6 (CO), 163.5 (CO); MS  $m/z = 349$  [ $M + 1$ ].

**Diethyl 5-amino-1-(2-bromo-4-methylphenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4c).** Yield: 45%, mp: 93°C - 95°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3445, 3335 ( $\text{NH}_2$ ), 1730 (CO), 1690 (CO), 1616 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 2.40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.01 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.28 (m, 2H), 7.55 (d, 1H,  $J = 1.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 60.2 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.7 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 93.9 (C), 121.8 (C), 129.6 (CH), 129.9 (CH), 132.7 (C), 134.2 (CH), 142.7 (C), 144.3 (C), 151.0 (C), 162.6 (CO), 163.7 (CO); MS  $m/z = 397$  [ $M + 1$ ], 399 [ $M + 3$ ].

**Diethyl 5-amino-1-(2-bromo-4-fluorophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4d).** Yield: 51%, mp: 105°C - 107°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3430, 3354 ( $\text{NH}_2$ ), 1718 (CO), 1697 (CO), 1621 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.35 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.18 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.19 (m, 1H), 7.46 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.3 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 94.0 (C), 116.3 (CH), 121.4 (CH), 123.2 (C), 131.7 (CH), 144.6 (C), 151.1 (C), 161.1 (C), 162.2 (C), 163.6 (CO), 164.7 (CO); MS  $m/z = 401$  [ $M + 1$ ], 403 [ $M + 3$ ].

**Diethyl 5-amino-1-(2,4-dibromophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4e).** Yield: 40%, mp: 91°C - 93°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3447, 3333 ( $\text{NH}_2$ ), 1737 (CO), 1693 (CO), 1610 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.35 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.0$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.0$  Hz), 4.30 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.0$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.0$  Hz), 5.24 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.33 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz), 7.61 (dd, 1H,  $J = 7.8$  et 2.1 Hz), 7.91 (d, 1H,  $J = 2.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.3 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 94.1 (C), 123.1 (C), 125.2 (C), 131.3 (CH), 132.2 (CH), 134.6 (C), 136.4 (CH), 144.8 (C), 150.9 (C), 162.5 (CO), 163.6 (CO); MS  $m/z = 462$  [ $M + 1$ ], 464 [ $M + 3$ ].

**Diethyl 5-amino-1-(2-methyl-5-nitrophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4f).** Yield: 49%, mp: 96°C - 98°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3443, 3331 ( $\text{NH}_2$ ), 1731 (CO), 1691 (CO), 1617 (C=N);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.35 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 2.31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.32 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.40 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.20 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.55 (d, 1H,  $J = 7.1$  Hz), 8.26 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 18.2 ( $\text{CH}_3$ ), 60.4 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.9 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 94.2

(C), 120.5 (C), 123.5 (CH), 125.1 (CH), 132.6 (CH), 135.6 (C), 144.7 (C), 146.8 (C), 150.8 (C), 162.4 (CO), 163.6 (CO); MS  $m/z = 363 [M + 1]$ .

**Diethyl 5-amino-1-(2-methyl-3-nitrophenyl)-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylate (4g).** Yield: 52%, mp: 120°C - 122°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3381, 3317 ( $\text{NH}_2$ ), 1716 (CO), 1695 (CO), 1626 (C=N);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.35 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.2$  Hz), 2.29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.32 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 4.40 (q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 7.2$  Hz), 5.19 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.51 (t, 1H,  $J = 7.5$ ), 7.62 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz), 8.02 (d, 1H,  $J = 7.5$ );  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 18.3 ( $\text{CH}_3$ ), 60.4 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 94.1 (C), 126.2 (CH), 127.7 (CH), 132.4 (C), 132.7 (CH), 136.9 (C), 144.8 (C), 150.8 (C), 151.3 (C), 162.4 (CO), 163.6 (CO); MS  $m/z = 363 [M + 1]$ .

**Synthesis of pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-diones 5a,d** A mixture of **4a, d** ( $12 \times 10^{-3}$  mol) and hydrazine hydrate (3 g,  $6 \times 10^{-2}$  mol) was refluxed for 8 hours in ethanol, after cooling the reaction mixture was poured onto ice. The solid obtained was filtered, dried and crystallized from methanol.

**3-Amino-2-(4-chlorophenyl)-5,6-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-dione (5a).** Yield: 94%, mp: 167°C - 169°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3380, 3345 ( $\text{NH}$ ,  $\text{NH}_2$ ), 1665 (CO), 1670 (CO);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  6.46 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.54 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz), 7.62 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz); 10.05 (s, 1H,  $\text{NH}$ ), 12.11 (s, 1H,  $\text{NH}$ );  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  93.2 (C), 126.3 (2CH), 129.9 (2CH), 132.7 (C), 136.7 (C), 147.5 (C), 150.8 (C), 159.4 (C), 163.7 (C); MS  $m/z = 278 [M + 1]$ , 280  $[M + 3]$ .

**3-Amino-2-(2-bromo-4-fluorophenyl)-5,6-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-d]pyridazine-4,7-dione (5d).** Yield: 86%, mp: 178°C - 180°C; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3385, 3360 ( $\text{NH}$ ,  $\text{NH}_2$ ), 1652 (CO), 1670 (CO);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  6.82 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.46 (dd, 1H,  $J = 8.4$  and 2.7 Hz), 7.69 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz), 7.86 (d, 1H,  $J = 2.7$  Hz), 10.39 (s, 1H,  $\text{NH}$ ), 12.59 (s, 1H,  $\text{NH}$ );  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  94.3 (C), 116.7 (CH), 121.4 (CH), 123.8 (C), 132.8 (CH), 141.1 (C), 153.0 (C), 154.3 (C), 159.4 (C), 160.3 (C), 162.5 (C), 164.6 (C); MS  $m/z = 341 [M + 1]$ , 343  $[M + 3]$ .

### 5. Cytotoxic Activity

The cytotoxic activity was studied against P815 (murine mastocytoma cell line) using colorimetric MTT assay as described and modified by Tim Mossman [21]. Cells were washed by centrifugation in PBS (Phosphate Buffered Saline), and incubated in 96-well microtiter plates (Bioster Italy) at a density of  $1.5 \times 10^5$  cells/ml in 100  $\mu\text{l}$  per well of culture medium (D-MEM) supplemented with 5% of foetal calf serum, and 100 U/ml of penicillin and 100  $\mu\text{g/ml}$  streptomycin, 0.2% sodium bicarbonate).

Then 100  $\mu\text{l}$  of fresh culture medium containing appropriate serial concentrations of the tested compounds were added in each well. After incubation for 48 h at 37°C and 5%  $\text{CO}_2$ , 100  $\mu\text{l}$  of medium were carefully aspirated from each well and replaced by 20  $\mu\text{l}$  of MTT solution (5 mg/ml PBS). After incubation during 4 h in the same conditions, the plates were treated with a mixture of HCl/Isopropanol (24:1) to dissolve the blue intracellular formazan product. One hour later, the optical density in the wells was read on a MicroElisa reader using dual-wavelength mode (540-630 nm). The cytotoxicity (%) =  $100 \times (1 - \text{OD}_t/\text{OD}_c)$ , where  $\text{OD}_c$  and  $\text{OD}_t$  are respectively the optical density of control and treated wells, respectively. Three independent sets of experiments performed in duplicate were evaluated.

### 6. Acknowledgements

The synthetic work was supported by a grant of the University of Sultan Moulay Slimane, Béni-Mellal and the National Centre for Scientific and Technical Research (CNRST), Rabat, Morocco. The authors thank Prof. A. Ziad (Laboratory of Biological Engineering, Faculty of Sciences and Technology, Beni-Mellal, Morocco) for antitumor tests.

### REFERENCES

- [1] B. K. Srivastava, A. Joharapurkar, S. Raval, J. Z. Patel, R. Soni, P. Raval, A. Gite, A. Goswami, N. Sadhwani, N. Gandhi, H. Patel, B. Mishra, M. Solanki, B. Pandey, M. R. Jain and P. R. Patel. "Diaryl Dihydropyrazole-3-carboxamides with Significant *In Vivo* Antiobesity Activity Related to CB1 Receptor Antagonism: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Modeling in the Homology Model." *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 50, No. 24, 2007, pp. 5951-5966. doi:10.1021/jm061490u
- [2] S. Yamamoto, N. Tomita, Y. Suzuki, T. Suzuki, T. Kaku, T. Hara, M. Yamaoka, N. Kanzaki, A. Hasuoka, A. Baba and M. Ito. "Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 4-Arylmethyl-1-phenylpyrazole and 4-Aryloxy-1-phenylpyrazole Derivatives as Novel Androgen Receptor Antagonists." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 20, No. 7, 2012, pp. 2338-2352. doi:10.1016/j.bmc.2012.02.005
- [3] C. E. Mowbray, C. Burt, R. Corbau, M. Perros, I. Tran, P. A. Stupple, R. Webster and A. Wooda. "Pyrazole NNRTIs 1: Design and Initial Optimisation of a Novel Template." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 19, No. 19, 2009, pp. 5599-5602. doi:10.1016/j.bmcl.2009.08.039
- [4] G. R. Beberitz, G. Argentieri, B. Battle, C. Brennan, B. Balkan, B. F. Burkey, M. Eckhardt, J. Gao, P. Kapa, R. J. Strohschein, H. F. Schuster, M. Wilson and D. D. Xu. "The Effect of 1,3-Diaryl-[1H]-pyrazole-4-acetamides on Glucose Utilization in ob/ob Mice." *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 44, No. 16, 2001, pp. 2601-2611. doi:10.1021/jm010032c

- [5] A. A. Bekhit and T. Abdel-Aziem, "Design, Synthesis and Biological Evaluation of Some Pyrazole Derivatives as Anti-Inflammatory-Antimicrobial Agents," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 12, No. 8, 2004, 1935-1945. doi:10.1016/j.bmc.2004.01.037
- [6] D. V. Dekhane, S. S. Pawar, S. Gupta, M. S. Shingare, C. R. Patil and S. N. Thore, "Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of Some New 4,5-Dihydro-1,5-diaryl-1H-pyrazole-3-substituted-heteroazole Derivatives," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 19, No. 21, 2011, pp. 6527-6532. doi:10.1016/j.bmcl.2011.08.061
- [7] F. R. Souza, V. T. Souza, V. Ratzlaff, L. P. Borges, M. R. Oliveira, H. G. Bonacorso, N. Zanatta, M. A. P. Martins and C. F. Mello, "Hypothermic and Antipyretic Effects of 3-Methyl- and 3-Phenyl-5-hydroxy-5-trichloromethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxyamides in Mice," *European Journal of Pharmacology*, Vol. 451, No. 2, 2002, pp. 141-147. doi:10.1016/S0014-2999(02)02225-2
- [8] M. Jovu, C. Zalaru, F. Dumitrascu, C. Draghici, M. Moraru and E. Criste, "New Substituted 2-(Pyrazol-1-yl)-dialkylacetanilides with Potential Local Anesthetic and Antiarrhythmic Action," *Il Farmaco*, Vol. 58, 2003, pp. 301-307.
- [9] X.-F. Huang, X. Lu, Y. Zhang, G.-Q. Song, Q.-L. He, Q.-S. Li, X.-H. Yang, Y. Wei and H.-L. Zhu, "Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies of N-((1,3-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl)aniline Derivatives as Novel Anticancer Agents," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 20, 2012, pp. 4895-4900.
- [10] X. Li, X. Lu, M. Xing, X.-H. Yang, T.-T. Zhao, H.-B. Gong and H.-L. Zhu, "Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies of N,1,3-Triphenyl-1H-pyrazole-4-carboxamide Derivatives as Anticancer Agents," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 22, 2012, pp. 3589-3593.
- [11] F. Chimenti, R. Fioravanti, A. Bolasco, F. Manna, P. Chimenti, D. Secci, O. Befani, P. Turini, F. Ortuso and S. Alcaro, "Monoamine Oxidase Isoform-Dependent Tautomeric Influence in the Recognition of 3,5-Diaryl Pyrazole Inhibitors," *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 50, No. 3, 2007, pp. 425-428. doi:10.1021/jm060868l
- [12] L.-L. Xu, C.-J. Zheng, L.-P. Sun, J. Miao and H.-R. Piao, "Synthesis of Novel 1,3-Diaryl Pyrazole Derivatives Bearing Rhodanine-3-fatty Acid Moieties as Potential Antibacterial Agents," *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 48, 2012, pp. 174-178. doi:10.1016/j.ejmech.2011.12.011
- [13] J. Wen, Y. Fu, R.-Y. Zhang, J. Zhang, S.-Y. Chen and X.-Q. Yu, "A Simple and Efficient Synthesis of Pyrazoles in Water," *Tetrahedron*, Vol. 67, No. 49, 2011, pp. 9618-9621. doi:10.1016/j.tet.2011.09.074
- [14] M. V. Patel, R. Bell, S. Majest, R. Henry and T. Kolasa, "Synthesis of 4,5-Diaryl-1H-pyrazole-3-ol Derivatives as Potential COX-2 Inhibitors," *Journal of Organic Chemistry*, Vol. 69, No. 21, 2004, pp. 7058-7065. doi:10.1021/jo049264k
- [15] S. T. Heller and S. R. Natarajan, "1,3-Diketones from Acid Chlorides and Ketones: A Rapid and General One-Pot Synthesis of Pyrazoles," *Organic Letters*, Vol. 8, 2006, pp. 2675-2678.
- [16] P. Conti, A. Pinto, L. Tamborini, V. Rizzo and C. D. Micheli, "A Regioselective Route to 5-Substituted Pyrazole- and Pyrazoline-3-phosphonic Acids and Esters," *Tetrahedron*, Vol. 63, No. 25, 2007, pp. 5554-5560. doi:10.1016/j.tet.2007.04.027
- [17] V. K. Aggarwal, J. D. Vicente and R. V. Bonnert, "A Novel One-Pot Method for the Preparation of Pyrazoles by 1,3-Dipolar Cycloadditions of Diazo Compounds Generated *in Situ*," *Journal of Organic Chemistry*, Vol. 68, No. 13, 2003, pp. 5381-5383. doi:10.1021/jo0268409
- [18] D. B. Sharp and C. S. Hamilton, "Derivatives of 1,2,4-Triazole and of Pyrazole," *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 68, No. 4, 1946, pp. 588-591. doi:10.1021/ja01208a018
- [19] S. Abouricha, E. M. Rakib, N. Benchat, M. Alaoui, H. Allouchi and B. El Bali, "Facile Synthesis of New Spirothiadiazolopyridazines by 1,3-Dipolar Cycloaddition," *Synthetic Communication*, Vol. 35, No. 16, 2005, pp. 2213-2221; doi:10.1080/00397910500182697
- [20] H. Sekkak, S. Mojahidi, E. M. Rakib, S. Abouricha, A. Kerbal, C. Aiello and M. Viale, "Synthesis and Antiproliferative Evaluation Of Spirothiadiazolopyridazine Derivatives," *Letters in Drug Design & Discovery*, Vol. 7, No. 10, 2010, pp. 743-746. doi:10.2174/1570180811007010743
- [21] T. Mossman, "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays," *Journal of Immunological Methods*, Vol. 65, No. 1-2, 1983, pp. 55-63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4

## Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Spirothiadiazolopyridazine Derivatives

Hanan Sekkak<sup>a</sup>, Souad Mojahidi<sup>a</sup>, El Mostapha Rakib<sup>\*a</sup>, Said Abouricha<sup>a</sup>, Abdelali Kerbal<sup>b</sup>, Cinzia Aiello<sup>c</sup> and Maurizio Viale<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie Organique et Analytiques, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, B.P. 523, Béni-Mellal, Morocco

<sup>b</sup>Laboratoire de Chimie Organique, Département de Chimie, Faculté des Sciences Dhar El Mehraz, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Morocco

<sup>c</sup>Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, S. C. Terapia Immunologica, L.go R. Benzi 10, 16132 Genova, Italy

Received March 17, 2010; Revised August 11, 2010; Accepted August 17, 2010

**Abstract:** The 1,3-dipolar cycloaddition of N-aryl-C-ethoxycarbonylnitrile imines to pyridazin-3-thione afforded novel spiro-thiadiazolopyridazines in moderate to good yields. The reaction occurs regioselectively at the exocyclic C=S bond. Some of the newly synthesized compounds were tested for their *in vitro* antitumor activity against three human and murine cell lines [human: A2780, (ovary, carcinoma), A549 (lung, carcinoma); murine: P388 (leukaemia)]. Among the series, some compounds exhibited significant growth inhibitory effects against cell lines P388.

**Keywords:** Pyridazinethione, Spirothiadiazolopyridazine, Cytotoxic activity.

### INTRODUCTION

Spiro-heterocycles have attracted a great deal of attention in recent years because of their biological properties, such as antitumoral [1, 2], analgesic [3, 4], antifungal and antimicrobial effects [5-7]. Thus, an increasing interest in this class of compounds has led to the development of new synthetic strategies. The [3+2] cycloaddition reaction [8-14] has proved an extremely versatile means of constructing a diverse array of highly functionalized spiroheterocycles derivatives. In this area, the reactions of nitrilimines cycloaddition to exoheterocyclic C=S bond have been found as means of improving the chance of achieving the synthesis of various derivatives of spiro[heterocycle-n,2'-3H-1,3,4-thiadiazole] [15-21]. Compounds possessing a C=S bond are highly reactive as dipolarophiles in 1,3-dipolar cycloadditions. In our previous work, we formerly demonstrated [22, 23] that C=S double bond showed a highly reactive dipolarophile in the reactions of 1,3-dipolar cycloaddition. In the present study, we continued to investigate the behavior of heterocyclic thiones in 1,3-dipolar cycloaddition by an example of 6-methy-2-phenyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-thione **4**. The principal aim of this study was to evaluate the spiro-compounds for their cytotoxicity *in vitro* against three human and murine cancer cell lines. There is almost no information about biological and pharmacological properties of this class of compounds.

### RESULTS AND DISCUSSION

#### Chemistry

N-aryl-C-ethoxycarbonylnitrile imines **6(a-d)** were generated *in situ* by treating with triethylamine appropriate eth-

ylhydrazono- $\alpha$ -bromoglyoxylates **5(a-d)**. The reaction of 1,3-dipolar cycloaddition was carried out under reflux in anhydrous tetrahydrofuran applying equimolar quantities of 6-methy-2-phenyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-thione **4** and hydrazonoyl bromide. The reaction progress was monitored by TLC using [Hexane/Ethyl acetate] as eluents. As in the cases previously studied, the reaction occurred regioselectively involving the exoheterocyclic C=S bond following the mechanism of [3+2] cycloaddition to yield Spirothiadiazolopyridazines **7(a-d)** (Scheme 1). Dipolarophile **4** is prepared from the cyclocondensation reaction between phenylhydrazine with levulinic acid followed by sulfuration of pyridazinone **3**.

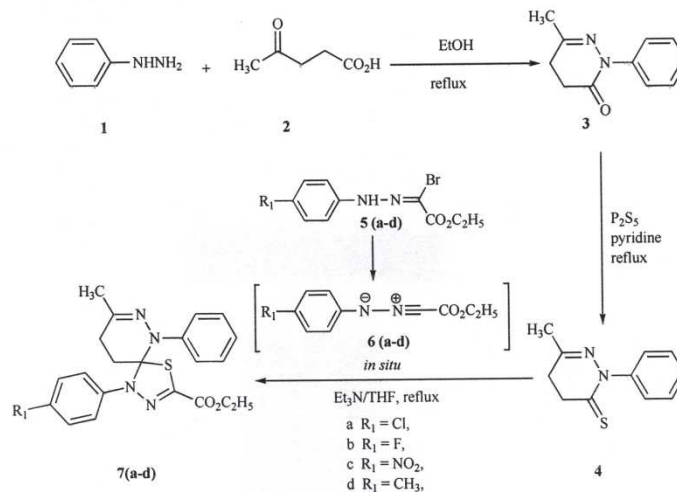
The spiroheterocyclic ring structures of cycloadducts **7(a-d)** were confirmed by IR, <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C NMR and mass spectral studies.

The IR spectra of cycloadducts **7(a-d)** lack absorption band in the region 1260 cm<sup>-1</sup> (which is typical of C=S stretching vibrations) but contain those at 1585–1595 cm<sup>-1</sup> and 1338–1347 cm<sup>-1</sup> due to stretching vibrations of the C=N and C–N bonds in the thiadiazole ring. In the <sup>13</sup>C NMR spectra of compounds **7(a-d)**, the signals from the spiro carbons appeared in the region 99.2–100.8 ppm; the other <sup>13</sup>C NMR parameters were consistent with the assumed structures. The structure of spiro compounds obtained was confirmed by their mass spectra. The mass spectra of these compounds contained the peaks of the corresponding molecular ions. The main fragmentation direction of the molecular ions was a recyclic decomposition of the thiadiazole ring with ejection of the nitrile imine ion.

#### Cytotoxic Activity

The preliminary cytotoxic activities of some compounds against three cell lines were evaluated *in vitro* as shown in

\*Address correspondence to this author at the Laboratoire de Chimie Organique et Analytiques, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, B.P. 523, Béni-Mellal, Morocco; Tel: 212523485182; Fax: 212523485201; E-mail: m.rakib@fstbm.ac.ma



Scheme 1.

Table 1. *In vitro* Cytotoxic Activity of Compounds 3, 4 and 7(a-c) Against Three Cell Lines

Compound	Cell lines		
	A2780 (ovary, carcinoma)	A549 (lung, carcinoma)	P388 (leukemia)
3	>>100	>>100	>>100
4	62,3±5,8	>>100	94,3±17,9
7a	58,8±3,1	93,3±6,8	9,24±2,66
7b	65,0±3,8	120,4±20,1	49,7±7,0
7c	>>100	>>100	98,1±3,1

Table 1. The IC50 represents the drug concentration ( $\mu\text{M}$ ) required to inhibit cell growth by 50%.

Comparison of the cytotoxicities of pyridazinone **3** with its homologue thioxo **4** reveals significant differences in their activities. The pyridazinethione **4** is more active than pyridazinone **3**. For spirothiadiazolopyridazines, we observed a significant improvement of biological activity on spiro compounds **7a** and **7b**. The compound **7a** is the most active in the series of spirothiadiazolopyridazines. The compound **7a** shows a rather interesting inhibitory concentration against the P388 cell line ( $\text{IC}_{50} = 9.24 \pm 2.66 \mu\text{M}$ ). This result shows that the substituent at position para of benzene in compounds **7a-c** may also play an important role in determining relative activities.

## EXPERIMENTAL

### General Instrumentation

Melting points were determined using a Büchi-Tottoli apparatus and are uncorrected. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer 577 spectrometer using KBr disks; only noteworthy IR absorptions are listed ( $\text{cm}^{-1}$ ).  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR

spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$  and solution (unless otherwise specified) with TMS as an internal reference using a Bruker AC 300 ( $^1\text{H}$ ) or 75MHz ( $^{13}\text{C}$ ) instruments. Chemical shifts are given in  $\delta$  parts per million (ppm). Multiplicities of  $^{13}\text{C}$  NMR resources were assigned by distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT) experiments. Low-resolution mass spectra (MS) were recorded on a Perkin-Elmer Sciex API 3000 spectrometer. Column chromatography was carried out on  $\text{SiO}_2$  (silica gel 60 Merck 0.063–0.200 mm). Thin-layer chromatography (TLC) was carried out on  $\text{SiO}_2$  (silica gel 60, F 254 Merck 0.063–0.200 mm), and the spots were located with UV light (254 nm). Commercial reagents were used without further purification unless stated.

### 6-Methyl-2-phenyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one **3**

A mixture of **1** (2.7 mL, 27 mmol) and levulinic acid (2.6 mL, 25 mmol) in ethanol 60 mL was refluxed for 4 hours, after cooling, the reaction mixture was poured onto ice. The solid obtained was filtered and crystallized from methanol to give **3** as white crystals, yield 3.9 g (85 %); mp: 94–96 °C;  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.14 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.54–2.65 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 7.20–7.31 (m, 2H, H-Ar), 7.36–7.40 (m, 1H, H-

Ar), 7.48-7.51 (m, 2H, H-Ar); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 23.2 (CH<sub>3</sub>), 26.3 (CH<sub>2</sub>), 27.7 (CH<sub>2</sub>), 125 (2CH-Ar), 126.5 (CH-Ar), 128.6 (2CH-Ar), 141.1, 154 (2C), 165 (C=O).

**6-Methy-2-phenyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-thione 4**

Yield: 95 %; mp: 184-186 °C; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40-2.51 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 6.44-6.48 (m, 2H, H-Ar), 6.60-6.63 (m, 1H, H-Ar), 6.98-7.05 (m, 2H, H-Ar); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 20.2 (CH<sub>3</sub>), 32.6 (CH<sub>2</sub>), 40.0 (CH<sub>2</sub>), 124.8 (CH-Ar), 126.5 (2CH-Ar), 129.1 (2CH-Ar), 139.0, 146.7 (2C), 202.0 (C=S).

**General Procedure for the Synthesis of Spirothiadiazolopyridazines 7(a-d)**

Triethylamine (2 mL, 9 mmol) dissolved in THF (5 mL) was added dropwise to a solution of pyridazin-3(2H)-thione 4 (5 mmol) and ethylhydrazonoa-bromoglyoxylate 5(a-d) (5 mmol) in THF (50 mL). The mixture was refluxed for 24 h. After evaporation of the solvent, the residue was purified by column chromatography on silica gel using hexane and ethyl acetate as eluents.

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-Chlorophenyl)spiro[1' H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazin-e] 7a**

Yield: 74 %; mp: 130-132 °C; IR (KBr, vcm<sup>-1</sup>): 1592 (C=N), 1338 (C-N), 1708 (C=O); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.24 (t, 3H, J=7.1 Hz), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.39-2.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.60-3.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.16 (q, 2H, J=7.1 Hz, CH<sub>2</sub>O), 6.58-6.65 (m, 4H, H-Ar), 6.71-6.79 (m, 1H, H-Ar), 7.05-7.17 (m, 4H, H-Ar). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.4 (CH<sub>3</sub>), 26.1 (CH<sub>2</sub>), 30.8 (CH<sub>2</sub>), 63.1 (CH<sub>2</sub>O), 99.2 (C-3), 113.5 (2CH-Ar), 125.0 (2CH-Ar), 125.6 (1CH-Ar), 128.3 (2CH-Ar), 129.7 (2CH-Ar), 122.7, 141.9, 143.8, 148.2, 156.0, 161.5 (6C); ESI-MS: 429 (<sup>35</sup>Cl) [M+1], 431 (<sup>37</sup>Cl) [M+3].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-Fluorophenyl)spiro[1' H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] 7b**

Yield: 51 %; mp: 136-138 °C; IR (KBr, vcm<sup>-1</sup>): 1595 (C=N), 1345 (C-N), 1705 (C=O); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.29 (t, 3H, J=7.09 Hz), 2.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.37-2.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.59-3.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.25 (q, 2H, J=7.09 Hz, CH<sub>2</sub>O), 7.02-7.14 (m, 3H, H-Ar), 7.21-7.31 (m, 4H, H-Ar), 7.53-7.57 (m, 2H, H-Ar). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 27.3 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 62.0 (CH<sub>2</sub>O), 100.5 (C-3), 115.6 (2CH-Ar), 122.1 (2CH-Ar), 125.2 (2CH-Ar), 125.7 (1CH-Ar), 128.3 (2CH-Ar), 133.0, 137.1, 144.8, 148.4, 158.2, 161.5 (6C); ESI-MS: 413 [M+1].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-Nitrophenyl)spiro[1' H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] 7c**

Yield: 60 %; mp: 164-166 °C; IR (KBr, vcm<sup>-1</sup>): 1585 (C=N), 1330 (C-N), 1710 (C=O), 1560, 1345 (NO<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.22 (t, 3H, J=7.09 Hz), 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40-2.55 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.60-3.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.04 (q, 2H, J=7.09 Hz, CH<sub>2</sub>O), 7.15-7.24 (m, 4H, H-Ar), 7.60-7.72 (m, 2H, H-Ar), 8.12-8.25 (m, 3H, H-Ar); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 14.2 (CH<sub>3</sub>), 23.6 (CH<sub>3</sub>), 26.9 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 62.7 (CH<sub>2</sub>O), 100.8 (C-3), 118.3 (2CH-Ar), 124.6 (2CH-Ar),

125.1 (2CH-Ar), 126.0 (1CH-Ar), 128.5 (2CH-Ar), 136.1, 144.5, 147.8, 149.0, 156.2, 162.0 (6C); ESI-MS: 440 [M+1].

**3'-Ethoxycarbonyl-6-méthyl-1'-(p-Methylphenyl)spiro[1' H-4,2,1-thiadiazolo-(3,5')-4,5-dihydro-2-phénylpyridazine] 7d**

Yield: 58 %; mp: 148-150 °C; IR (KBr, vcm<sup>-1</sup>): 1590 (C=N), 1347 (C-N), 1705 (C=O); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.25 (t, 3H, J=7.1 Hz), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.34-2.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.58-3.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.15 (q, 2H, J=7.1 Hz, CH<sub>2</sub>O), 6.12-6.24 (m, 1H, H-Ar), 6.92-7.32 (m, 5H, H-Ar), 7.42-7.66 (m, 3H, H-Ar); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 14.2 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>), 61.6 (CH<sub>2</sub>O), 100.3 (C-3), 118.9 (2CH-Ar), 125.5 (2CH-Ar), 125.9 (1CH-Ar), 128.1 (2CH-Ar), 129.4 (2CH-Ar), 132.2, 133.7, 138.5, 144.8, 147.4, 160.0 (6C); ESI-MS: 409 [M+1].

**Cytotoxic Activity**

Three human and murine cell lines [human: A2780, (ovary, carcinoma), A549 (lung, carcinoma); murine: P388 (leukaemia)] were plated into 96-well microtiter plates (flat and round-bottomed) at different concentrations/well ranging from 1,000 to 2,000/well. Plates were centrifuged at 275 g for 3 minutes and then maintained for about 6-8 hours before treatment. Molecules were added in duplicate at the appropriate 10X concentrations for a minimum of 5 concentrations (1:10 fold serial dilutions). A final volume of 200 μL was reached in each well. Opportune controls were always made for each experiment. After 3-day culture 50 μL of 3-(2,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT, Sigma, St. Louis, MO, USA) solution [2 mg/mL in phosphate buffered saline (PBS)] was added to the wells and incubated for 4 hours at 37 °C. Microplates were then centrifuged at 275 g for 3 minutes and the culture medium carefully aspirated and replaced with 100 μL of 100% DMSO. Complete and homogeneous solubilization of formazan crystals was achieved after 20-30 minutes of incubation and shaking of well contents. The absorbance was measured on a 400 ATC microculture plate reader (SLT Labinstruments, Austria) at 540 nm [24]. IC<sub>50</sub>s were calculated by the analysis of single-dose response curves, each final value being the mean of 3-7 experiments.

**Dilution of Compounds for the Biological Assay**

All molecules were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) at 100 mM concentration. These solutions were then further diluted with fetal calf serum to obtain 10X solution of the final experimental concentrations. The DMSO final concentration was always maintained at 0.4% (v/v). Following dilutions were obtained in phosphate buffered saline. Opportune controls were always made.

**CONCLUSION**

A new spirothiadiazolopyridazines were synthesized and evaluated for their cytotoxic activities. The preliminary cytotoxic assay indicated that spirocompound 7a exhibited significant cytotoxicity against cell line P388. The cycloadduct 7a can be useful as a lead for the development of novel anti-cancer agents.

## REFERENCES

- [1] Bolognese, A.; Correale, G.; Manfra, M.; Esposito, A.; Novellino, E.; Lavecchia, A. Antitumor agents. Synthesis, structure-activity relationships, and biological evaluation of spiro[imidazolidine-4,3'-thieno[2,3-g]quinoline]-tetraones and spiro[thieno[2,3-g]quinoline-3,5'-[1,2,4]triazinane]-tetraones with potent antiproliferative activity. *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*(24), 8148-8157.
- [2] Kutschy, P.; Salayová, A.; Curillová, Z.; Kožár T.; Mezencev, R.; Mojžiš, J.; Pílatová, M.; Balentová, E.; Pazdera, P.; Šabol, M.; Zburová, M. 2-(Substituted phenyl)amino analogs of 1-methoxySpirobrassinol methyl ether: Synthesis and anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*(10), 3698-3712.
- [3] Hafez, H.N.; Hegab, M.I.; Ahmed-Farag, I.S.; El-Gazzar, A. B. A. A facile regioselective synthesis of novel spiro-thioxanthene and spiro-xanthene-9',2'-[1,3,4]thiadiazole derivatives as potential analgesic and anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*(16), 4538-4543.
- [4] Noal, C.; Bruce, L. B.; Rocco, J. L.; Herman, W. B. Analgesic activity of novel spiro heterocycles. 2-Amino-7-oxa-3-thia-1-azaspiro[5.5]undec-1-enes and related compounds. *J. Med. Chem.*, **1978**, *21*(9), 895-900.
- [5] Dandia, A.; Singh, R.; Khaturia, S.; Mérienne, C.; Morgant, G.; Loupy, A. Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro [indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro[3H-indole-3,2'-thiazolidine]-3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1H)-dione. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*(7), 2409-2417.
- [6] Amal Raj, A.; Raghunathan, R.; SrideviKumari, M. R.; Raman, N. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of a new class of spiro pyrrolidines. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 407-419.
- [7] Girija, S. S.; Patrick, L. Synthesis and antimicrobial activity of new 1-alkylcyclohexyl-3,3-diaryl-1'-methylspiro[azetidine-2,3'-indoline]-2',4'-diones. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*(5), 2265-2269.
- [8] (a) Robert, K. H.; Becky, R. S. Spiroheterocycles from the reaction of nitrile oxides with 3-methylenephthalimides. *J. Org. Chem.*, **1990**, *55* (15), 4603-4607. (b) Robert, K. H.; Becky, R.S., Kou, C. L. 3',4'-Diarylspiro[isobenzofuran-1(3H),5'(4'H)-isoxazol]-3-ones. Reaction of nitrile oxides with 3-benzylidenephthalides. *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*(6), 903-904.
- [9] Jia-Qi, L.; Rong-Zhen, L.; Wan-Jian, D.; Ying, C. Highly efficient and site-selective [3 + 2]cycloaddition of carbene-derived ambident dipoles with ketenes for a straightforward synthesis of spiro-pyrrolidones. *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*(16), 6266-6269.
- [10] Xiaofen, H.; Yaqing, F.; Kangjian, Q.; Weiyi, Z. Regioselective synthesis of novel spiroheterocyclic framework via the 1,3-dipolar cycloaddition. *J. Heterocyclic Chem.*, **2006**, *43*(1), 75-80.
- [11] Ben Hadda, T.; Badri R.; Kerbal, A.; Filali, B. B.; Akkurt, M.; Demailly, G.; Benazza, M. Synthesis and antitubercular activity of spiroheterocycles: 2,2',4',5'-tetra-substituted-1,2,2',4'-tetrahydro-4H-spiro[isoquinoline-3,3'-pyrazol]-4-ones. *Arkivoc*, **2007**, 2007 (xiv), 276-288.
- [12] Fišera, L.; Jaroková, L.; Lévai, A.; Jedlovská, E.; Tóth, G.; Poláková, M. 1,3-Dipolar Cycloaddition of 3-Arylidenechromanone -1-thiochromanone and -flavanone: Regio- and Stereoselective Formation of Spiroheterocycles. *Heterocycles*, **1997**, *45*(9), 1651-1655.
- [13] Xiao-Fen H.; Ya-Qing F. Synthesis of novel spiroheterocyclic framework via the regioselective 1,3-dipolar cycloaddition reaction of azomethine ylides. *Synth. Commun.*, **2005**, *35*(13), 1747-1752.
- [14] Amal Raj A.; Raghunathan R. Synthesis of spiro pyrrolidines via formal [3+2] cycloaddition of unusual enones and cis-3-benzoyl-1-cyclohexyl-2-phenylaziridine. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 2907-2911.
- [15] Hassaneen, H. M.; Daboun, H. A.; Abdelhadi, H. A.; Abdel-Reheem, N. A. Site selectivity and regiochemistry of nitrilimines. Cycloaddition to 1,3-diphenyl-2-thiono-4-imidazolidinone and its 5-phenylmethylene derivatives. *Phosphorus, Sulfur & Silicon*, **1995**, *107*(2), 269-273.
- [16] Hassaneen, H. M.; Shawali, A. S.; Farag, D. S.; Ahmed, E. M. Reaction of hydrazoneyl halides with 5-arylmethylene-3-phenyl-2-thioxothiazolidin-4-one. Synthesis of 4,9-dithia-1,2,6-triazaspiro[4,4]nonan-2-en-7-one. *Phosphorus, Sulfur & Silicon*, **1996**, *113*(1), 53-58.
- [17] Buchel, T.; Prewo, R.; J. H. Bieri, J. H.; Heimgartner, H. 1,3-Dipolare Cycloadditionen von Nitrilium-Betainen mit 4,4-Dimethyl-2-phenyl-2-thiazolin-5-thion. *Helv. Chim. Acta*, **1984**, *67*(2), 534-549.
- [18] Grubert, L.; Patzel, M.; Jugelt, W.; Riemer, B.; Liebscher, J. Reaktionen von 1,3-dipolen mit heterocyclen, 9. Umsetzungen von nitriliminen mit pyrazinen, pyrimidinen und 1H-pyrimidinthionen. *Liebigs Ann. Chem.*, **1994**, *10*, 1005-1011.
- [19] Oparin, D. A.; Matylevich, Zh. V.; Galishev, V. A. *Zh. Org. Khim.*, **1993**, *29*, 2321.
- [20] Budarina, E. V.; Labeish, N. N.; Bel'skii V. K.; Galishev V. A. Heterocyclic thiones and their analogs in reactions of 1,3-dipolar addition: V. Reactions of 2,3,3-triphenyl-1-thioxophthalimide with nitrile imines. *Russ. J. Org. Chem.*, **2005**, *41*(5), 758-761.
- [21] Labeish, N. N.; Oparin, D. A.; Bel'skii, V. K.; Galishev, V. A. Heterocyclic thiones and their analogues in 1,3-dipolar cycloaddition reactions: I. Reactions of 1,2-dithiophthalides with nitrilimines. *Russ. J. Org. Chem.*, **1997**, *33*(3), 381-387.
- [22] Abouricha, S.; Rakib, E. M.; Benchat, N.; Alaoui, M.; Allouchi, H.; El Bali, B. Facile synthesis of new spirothiadiazolopyridazines by 1,3-dipolar cycloaddition. *Synth. Commun.*, **2005**, *35*(16), 2213-2221.
- [23] Rakib, E.M.; Benchidmi, M.; Essassi, E.M.; El Bouadili, A.; Khouili, M.; Barbe, M.; Dolors, M. P. Synthesis of new heterocyclic systems: Spirothiadiazolopyrazolo[1.5.4-ef][1.5]benzodiazepines. *Heterocycles*, **2000**, *53*(3), 571-577.
- [24] Hussain, R. F.; Nouri, A. M. E.; Oliver, R. T. D. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay. *J. Immunol. Methods*, **1993**, *160*, 89-96.





Acta Crystallographica Section E  
Structure Reports  
Online

ISSN 1600-5368

## 6-Methyl-2-phenyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one

Hanan Sekkak,<sup>a</sup> El Mostapha Rakib<sup>a\*</sup> and Hafid Zouhri<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie Organique et Analytique, Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal, BP 523, Morocco, and

<sup>b</sup>Laboratoires de Diffraction des Rayons X, Centre Nationale pour la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, Morocco

Correspondence e-mail: elmostapha1@gmail.com

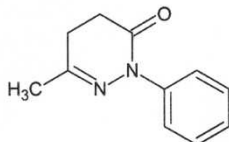
Received 14 May 2011; accepted 7 June 2011

Key indicators: single-crystal X-ray study;  $T = 296$  K; mean  $\sigma(\text{C}-\text{C}) = 0.003$  Å;  $R$  factor = 0.032;  $wR$  factor = 0.094; data-to-parameter ratio = 9.5.

In the title molecule,  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ , the pyridazine ring has a skew-boat conformation. The dihedral angle between the phenyl ring [r.m.s deviation = 0.0039 (15) Å] and the best mean-plane of the pyridazine ring [r.m.s deviations = 0.2629 (15) Å] is 53.27 (10)°. In the crystal, molecules are linked by  $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$  hydrogen bonds and  $\text{C}-\text{H}\cdots\pi$  interactions involving the methyl group and the phenyl ring of a symmetry-related molecule.

### Related literature

For the similar structure, 2-(4-methoxyphenyl)-6-(trifluoromethyl)-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one, see: Wan *et al.* (2009). For conformation analysis of six-membered rings, see: Cremer & Pople (1975).



### Experimental

#### Crystal data

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$

$M_r = 188.23$

Monoclinic,  $P2_1$   
 $a = 6.4151$  (2) Å  
 $b = 7.9010$  (2) Å  
 $c = 10.1888$  (3) Å  
 $\beta = 106.607$  (1)°  
 $V = 494.89$  (2) Å<sup>3</sup>

$Z = 2$   
Mo  $K\alpha$  radiation  
 $\mu = 0.08$  mm<sup>-1</sup>  
 $T = 296$  K  
 $0.24 \times 0.15 \times 0.12$  mm

#### Data collection

Bruker APEXII CCD detector  
diffractometer  
7678 measured reflections

1220 independent reflections  
1154 reflections with  $I > 2\sigma(I)$   
 $R_{int} = 0.031$

#### Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.032$   
 $wR(F^2) = 0.094$   
 $S = 1.06$   
1220 reflections  
129 parameters

1 restraint  
H-atom parameters constrained  
 $\Delta\rho_{max} = 0.15$  e Å<sup>-3</sup>  
 $\Delta\rho_{min} = -0.13$  e Å<sup>-3</sup>

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$\text{Cg1}$  is the centroid of the C1–C6 ring.

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
$\text{C3}-\text{H3}\cdots\text{O1}^i$	0.93	2.54	3.371 (3)	149
$\text{C5}-\text{H5}\cdots\text{O1}^{ii}$	0.93	2.50	3.346 (2)	152
$\text{C8}-\text{H8B}\cdots\text{O1}^{iii}$	0.97	2.55	3.474 (3)	159
$\text{C11}-\text{H11B}\cdots\text{Cg1}^{iv}$	0.96	2.89	3.812 (3)	161

Symmetry codes: (i)  $-x + 1, y - \frac{1}{2}, -z + 2$ ; (ii)  $x - 1, y, z$ ; (iii)  $-x + 1, y - \frac{1}{2}, -z + 1$ ; (iv)  $-x, y + \frac{1}{2}, -z + 1$ .

Data collection: *APEX2* (Bruker, 2005); cell refinement: *SAINT* (Bruker, 2005); data reduction: *SAINT*; program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *PLATON* (Spek, 2009); software used to prepare material for publication: *publCIF* (Westrip, 2010).

The authors thank the Unit of Support for Technical and Scientific Research (UATRS, CNRST) for the X-ray measurements.

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: SU2275).

### References

- Bruker (2005). *APEX2* and *SAINT*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.  
Cremer, D. & Pople, J. A. (1975). *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 1354–1358.  
Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.  
Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* **D65**, 148–155.  
Wan, W., Hou, J., Jiang, H., Wang, Y., Zhu, S., Deng, H. & Hao, J. (2009). *Tetrahedron*, **65**, 4212–4219.  
Westrip, S. P. (2010). *J. Appl. Cryst.* **43**, 920–925.

## supplementary materials

*Acta Cryst.* (2011). E67, o1709 [ doi:10.1107/S1600536811021970 ]

**6-Methyl-2-phenyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one**

H. Sekkak, E. M. Rakib and H. Zouihri

**Comment**

The molecular structure of the title molecule is illustrated in Fig. 1. The bond distances and angles are similar to those reported for 2-(4-Methoxyphenyl)-6-(trifluoromethyl)-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one (Wan *et al.*, 2009). The pyridazine ring has a skew-boat conformation; Puckering Amplitude (Q) = 0.428 (2) Å,  $\theta = 69.9$  (2)°,  $\phi = 207.6$  (3)° (Cremer and Pople, 1975). The dihedral angle between the phenyl ring and the best mean-plane of the pyridazine ring (r.m.s deviations: 0.2629 (15) Å) is 53.27 (10)°.

In the crystal molecules are linked *via* non-classical C—H...O hydrogen bonds (Table 1), forming a two-dimensional network (Fig. 2). Molecules are also linked by C—H... $\pi$  interactions involving a methyl H-atom and the phenyl ring of a symmetry related molecule (Table 1).

**Experimental**

A mixture of phenylhydrazine (2.7 ml, 27 mmol) and levulinic acid (2.6 ml, 25 mmol) in 60 ml of ethanol were refluxed for 4 h. After cooling the reaction mixture was poured onto ice. The solid obtained was filtered off and recrystallized from methanol to give the title compound as colourless crystals: Yield 3.9 g (85%); Mp: 367–369 K. Spectroscopic data for the title compound is given in the archived CIF.

**Refinement**

In the final cycles of refinement, in the absence of significant anomalous scattering effects, 906 Friedel pairs were merged and  $\Delta f$  set to zero. H-atoms were positioned geometrically, with C—H = 0.93 Å for CH(aromatic), 0.97 Å for CH<sub>2</sub> and 0.96 Å for CH<sub>3</sub> H-atoms. They were constrained to ride on their parent atoms, with  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = k \times U_{\text{eq}}(\text{C})$ , where  $k = 1.5$  for CH<sub>3</sub> H-atoms and  $k = 1.2$  for all other H-atoms.

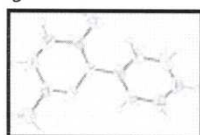
**Figures**

Fig. 1. A view of the molecular structure of the title molecule, showing the atom-labeling scheme. Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level.

## supplementary materials

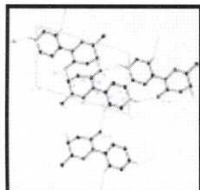


Fig. 2. A view along the *b* axis of the crystal packing of the title compound, showing the chain formed by C—H...O interactions (dashed lines; see Table 1 for details). H-atoms not involved in hydrogen bonding have been omitted for clarity.

## 6-Methyl-2-phenyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one

*Crystal data*

$C_{11}H_{12}N_2O$	$F(000) = 200$
$M_r = 188.23$	$D_x = 1.263 \text{ Mg m}^{-3}$
Monoclinic, $P2_1$	Melting point: 397 K
Hall symbol: P 2yb	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
$a = 6.4151 (2) \text{ \AA}$	Cell parameters from 256 reflections
$b = 7.9010 (2) \text{ \AA}$	$\theta = 2.4\text{--}26.5^\circ$
$c = 10.1888 (3) \text{ \AA}$	$\mu = 0.08 \text{ mm}^{-1}$
$\beta = 106.607 (1)^\circ$	$T = 296 \text{ K}$
$V = 494.89 (2) \text{ \AA}^3$	Prism, colourless
$Z = 2$	$0.24 \times 0.15 \times 0.12 \text{ mm}$

*Data collection*

Bruker APEXII CCD detector diffractometer	1154 reflections with $I > 2\sigma(I)$
Radiation source: fine-focus sealed tube graphite	$R_{\text{int}} = 0.031$
$\omega$ and $\phi$ scans	$\theta_{\text{max}} = 27.5^\circ$ , $\theta_{\text{min}} = 2.1^\circ$
7678 measured reflections	$h = -8 \rightarrow 7$
1220 independent reflections	$k = -8 \rightarrow 10$
	$l = -12 \rightarrow 13$

*Refinement*

Refinement on $F^2$	Secondary atom site location: difference Fourier map
Least-squares matrix: full	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.032$	H-atom parameters constrained
$wR(F^2) = 0.094$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0582P)^2 + 0.0443P]$
$S = 1.06$	where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
1220 reflections	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
129 parameters	$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.15 \text{ e \AA}^{-3}$
1 restraint	$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.13 \text{ e \AA}^{-3}$
	Extinction correction: <i>SHELXL</i> ,
	$F_c^* = kFc[1 + 0.001xFc^2\lambda^3/\sin(2\theta)]^{-1/4}$

sup-2

## supplementary materials

Primary atom site location: structure-invariant direct methods Extinction coefficient: 0.21 (2)

*Special details*

**Experimental.** Spectroscopic data for the title compound:  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.54–2.65 (m, 4H, –CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–), 7.20–7.31 (m, 2H, H–Ar), 7.36–7.40 (m, 1H, H–Ar), 7.48–7.51 (m, 2H, H–Ar);  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  23.2 (CH<sub>3</sub>), 26.3 (CH<sub>2</sub>), 27.7 (CH<sub>2</sub>), 125 (2CH–Ar), 126.5 (CH–Ar), 128.6 (2CH–Ar), 141.1, 154 (2 C), 165 (C=O).

**Geometry.** All e.s.d.'s (except the e.s.d. in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell e.s.d.'s are taken into account individually in the estimation of e.s.d.'s in distances, angles and torsion angles; correlations between e.s.d.'s in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell e.s.d.'s is used for estimating e.s.d.'s involving l.s. planes.

**Refinement.** Refinement of  $F^2$  against ALL reflections. The weighted  $R$ -factor  $wR$  and goodness of fit  $S$  are based on  $F^2$ , conventional  $R$ -factors  $R$  are based on  $F$ , with  $F$  set to zero for negative  $F^2$ . The threshold expression of  $F^2 > \sigma(F^2)$  is used only for calculating  $R$ -factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement.  $R$ -factors based on  $F^2$  are statistically about twice as large as those based on  $F$ , and  $R$ -factors based on ALL data will be even larger.

*Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
C1	0.4300 (3)	0.0477 (3)	0.83092 (17)	0.0488 (5)
C10	0.4122 (2)	0.2873 (2)	0.59455 (17)	0.0413 (4)
C11	–0.1543 (3)	0.1310 (3)	0.2779 (2)	0.0598 (6)
C2	0.4258 (4)	–0.0098 (3)	0.95947 (18)	0.0608 (6)
C3	0.2448 (4)	0.0173 (4)	1.00372 (19)	0.0673 (7)
C4	0.0679 (4)	0.1005 (4)	0.92101 (19)	0.0652 (6)
C5	0.0682 (3)	0.1580 (3)	0.79218 (17)	0.0488 (4)
C6	0.2502 (3)	0.1303 (2)	0.74779 (15)	0.0389 (4)
C7	0.0504 (3)	0.1740 (2)	0.38723 (16)	0.0416 (4)
C8	0.2420 (3)	0.2321 (3)	0.34560 (17)	0.0513 (4)
C9	0.3773 (3)	0.3520 (3)	0.45107 (18)	0.0527 (5)
H1	0.5527	0.0307	0.8012	0.059*
H11A	–0.1265	0.0394	0.2233	0.090*
H11B	–0.2028	0.2282	0.2207	0.090*
H11C	–0.2646	0.0979	0.3195	0.090*
H2	0.5454	–0.0666	1.0154	0.073*
H3	0.2425	–0.0207	1.0897	0.081*
H4	–0.0537	0.1187	0.9516	0.078*
H5	–0.0522	0.2143	0.7365	0.059*
H8A	0.1937	0.2887	0.2576	0.062*
H8B	0.3295	0.1353	0.3359	0.062*
H9A	0.5173	0.3679	0.4341	0.063*
H9B	0.3053	0.4611	0.4420	0.063*
N1	0.25017 (19)	0.18561 (19)	0.61361 (12)	0.0389 (3)
N2	0.0518 (2)	0.1529 (2)	0.51137 (14)	0.0434 (4)
O1	0.5696 (2)	0.3270 (2)	0.68880 (14)	0.0560 (4)

sup-3

## supplementary materials

### Atomic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
C1	0.0539 (9)	0.0478 (11)	0.0389 (8)	0.0057 (8)	0.0038 (7)	-0.0021 (8)
C10	0.0413 (7)	0.0409 (9)	0.0420 (8)	-0.0027 (7)	0.0125 (6)	-0.0036 (7)
C11	0.0667 (12)	0.0614 (14)	0.0393 (9)	-0.0110 (11)	-0.0044 (8)	0.0058 (9)
C2	0.0803 (13)	0.0507 (11)	0.0362 (8)	0.0005 (11)	-0.0081 (8)	0.0020 (9)
C3	0.0981 (17)	0.0708 (15)	0.0300 (7)	-0.0190 (14)	0.0136 (9)	0.0020 (9)
C4	0.0708 (12)	0.0870 (17)	0.0420 (9)	-0.0164 (12)	0.0230 (9)	-0.0045 (11)
C5	0.0465 (8)	0.0620 (11)	0.0374 (8)	-0.0036 (9)	0.0112 (6)	0.0008 (8)
C6	0.0448 (8)	0.0387 (8)	0.0301 (7)	-0.0042 (7)	0.0056 (6)	-0.0015 (6)
C7	0.0499 (8)	0.0360 (8)	0.0346 (7)	-0.0007 (7)	0.0048 (6)	0.0022 (7)
C8	0.0625 (10)	0.0570 (11)	0.0352 (7)	-0.0039 (9)	0.0151 (7)	0.0019 (8)
C9	0.0579 (10)	0.0550 (11)	0.0474 (9)	-0.0115 (9)	0.0189 (8)	0.0028 (9)
N1	0.0390 (6)	0.0451 (8)	0.0306 (6)	-0.0027 (6)	0.0067 (5)	0.0004 (6)
N2	0.0416 (7)	0.0494 (9)	0.0342 (6)	-0.0062 (7)	0.0027 (5)	0.0034 (6)
O1	0.0454 (6)	0.0631 (9)	0.0533 (7)	-0.0136 (7)	0.0044 (5)	-0.0029 (7)

### Geometric parameters ( $\text{\AA}$ , $^\circ$ )

C1—H1	0.9300	C5—C4	1.389 (3)
C1—C2	1.394 (3)	C6—N1	1.4351 (19)
C10—C9	1.504 (2)	C6—C5	1.385 (2)
C10—N1	1.371 (2)	C6—C1	1.384 (2)
C10—O1	1.219 (2)	C7—C11	1.498 (2)
C11—H11C	0.9600	C7—C8	1.483 (2)
C11—H11B	0.9600	C7—N2	1.273 (2)
C11—H11A	0.9600	C8—H8B	0.9700
C2—H2	0.9300	C8—H8A	0.9700
C2—C3	1.377 (4)	C9—H9B	0.9700
C3—H3	0.9300	C9—H9A	0.9700
C3—C4	1.373 (4)	C9—C8	1.507 (3)
C4—H4	0.9300	N2—N1	1.4191 (17)
C5—H5	0.9300		
C2—C1—H1	120.2	C6—C5—C4	119.07 (19)
C6—C1—H1	120.2	C5—C6—N1	119.50 (15)
C6—C1—C2	119.50 (19)	C1—C6—N1	119.99 (15)
N1—C10—C9	115.39 (14)	C1—C6—C5	120.50 (15)
O1—C10—C9	122.55 (16)	C8—C7—C11	118.64 (15)
O1—C10—N1	122.02 (16)	N2—C7—C11	117.69 (17)
H11B—C11—H11C	109.5	N2—C7—C8	123.63 (14)
H11A—C11—H11C	109.5	H8A—C8—H8B	108.1
C7—C11—H11C	109.5	C9—C8—H8B	109.6
H11A—C11—H11B	109.5	C7—C8—H8B	109.6
C7—C11—H11B	109.5	C9—C8—H8A	109.6
C7—C11—H11A	109.5	C7—C8—H8A	109.6
C1—C2—H2	120.0	C7—C8—C9	110.26 (15)

sup-4

---

 supplementary materials
 

---

C3—C2—H2	120.0	H9A—C9—H9B	107.9
C3—C2—C1	120.08 (19)	C8—C9—H9B	109.2
C2—C3—H3	120.0	C10—C9—H9B	109.2
C4—C3—H3	120.0	C8—C9—H9A	109.2
C4—C3—C2	120.02 (17)	C10—C9—H9A	109.2
C5—C4—H4	119.6	C10—C9—C8	112.02 (17)
C3—C4—H4	119.6	N2—N1—C6	113.57 (12)
C3—C4—C5	120.8 (2)	C10—N1—C6	121.30 (13)
C4—C5—H5	120.5	C10—N1—N2	124.06 (13)
C6—C5—H5	120.5	C7—N2—N1	117.09 (14)

*Hydrogen-bond geometry (Å, °)*

Cg1 is the centroid of the C1—C6 ring.

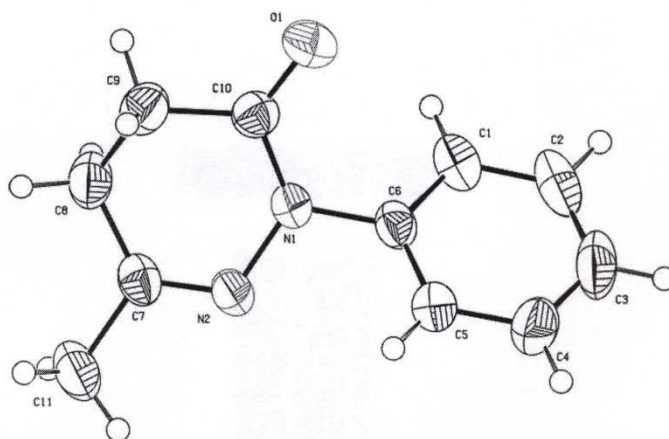
<i>D</i> —H $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> —H	H $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> —H $\cdots$ <i>A</i>
C3—H3 $\cdots$ O1 <sup>i</sup>	0.93	2.54	3.371 (3)	149
C5—H5 $\cdots$ O1 <sup>ii</sup>	0.93	2.50	3.346 (2)	152
C8—H8B $\cdots$ O1 <sup>iii</sup>	0.97	2.55	3.474 (3)	159
C11—H11B $\cdots$ Cg1 <sup>iv</sup>	0.96	2.89	3.812 (3)	161

Symmetry codes: (i)  $-x+1, y-1/2, -z+2$ ; (ii)  $x-1, y, z$ ; (iii)  $-x+1, y-1/2, -z+1$ ; (iv)  $-x, y+1/2, -z+1$ .

supplementary materials

---

Fig. 1

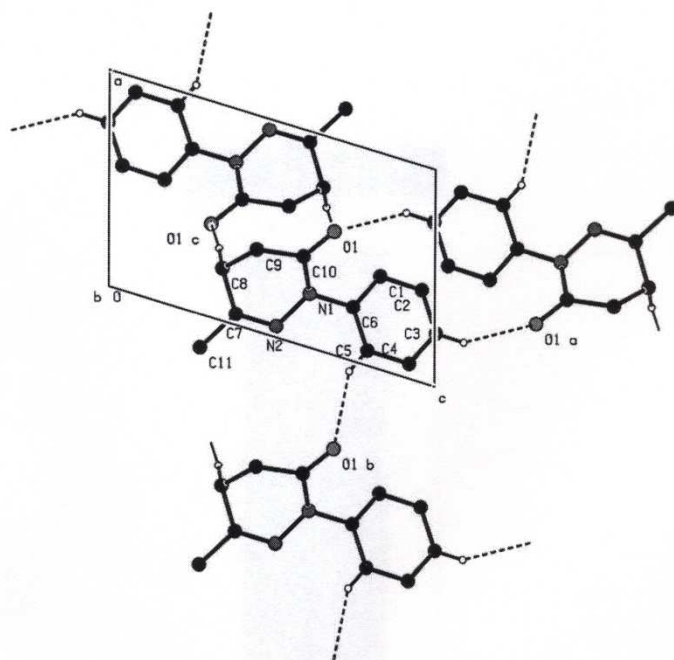


---

sup-6

## supplementary materials

Fig. 2



sup-7



## Résumé

### Halogénure d'Hydrazonoyle Précurseur de Synthèse de Divers Systèmes Hétérocycliques

Les composés hétérocycliques représentent la majorité des molécules utilisées dans l'industrie pharmaceutique et font l'objet d'une recherche très active dans le monde. Leur rôle dans les processus biologique est de première importance et ils sont aussi les structures de base d'une grande variété des médicaments. Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules hétérocycliques à caractère pharmacologique potentielles.

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de la pyridazin-3(2*H*)-one et de son homologue pyridazinethione avec les *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines. Cette réaction nous a permis d'accéder à la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques de type triazolopyridazinones et spiro thiadiazolopyridazines. Les résultats pharmacologiques effectués sur la lignée cellulaire tumorale P388 montrent que les spirothiadiazolopyridazines possèdent des activités anticancéreuses significatives.

Dans la deuxième partie, nous avons développé avec une approche simple, la synthèse d'une nouvelle série de 5-aminopyrazole-3,4-dicarboxylates par cycloaddition dipolaire 1,3 des *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonyl nitrilimines avec le cyanoacétate d'éthyle. Leur réactivité vis-à-vis de l'hydrazine nous a permis de préparer de nouvelles pyrazolo[4,3-*d*]pyridazine-4,7-diones. L'activité cytotoxique *in vitro* des pyrazoles tétrasubstitués a été évaluée et a montré une activité anticancéreuse significative vis-à-vis de la lignée cellulaire murine de mastocytome P815.

**Mots clés :** *N*-aryl-*C*-éthoxycarbonylnitrilimines, Cycloaddition dipolaire, Triazolopyridazinones, Spirothiadiazolopyridazines, 5-aminopyrazole-3,4-dicarboxylates, Activité cytotoxique