جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

كلية العلوم ظهر المهراز فاس
FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ FES

N° d'Ordre : 17 /2023

Centre des Etudes Doctorales : Sciences et Techniques

Formation Doctorale : Molécules bioactives santé & biotechnologie

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Laboratoire d'Ingénierie des Matériaux Organométalliques, Moléculaires et Environnement

Thèse pour l'obtention de DOCTORAT

Synthèse, caractérisation de nouveaux hétérocycles à partir des aza-aurones et évaluation de leurs activités biologiques

Préparée par : CHALKHA Mohammed

Soutenue le 04/03/2023 devant le jury :

Pr. LACHKAR Mohammed	**PES**	**FSDM/USMBA-Fès**	**Président**
Pr. BOUGRIN Khalid	**PES**	**FSR/UM5-Rabat**	**Rapporteur & examinateur**
Pr. SAFI Mohamed	**PES**	**FSTM/UH2**	**Rapporteur & examinateur**
Pr. ALAMI Anouar	**PES**	**FSDM/USMBA-Fès**	**Rapporteur & examinateur**
Pr. BEN HADDA Taibi	**PES**	**FSO/UMP**	**Examinateur**
Pr. BARI Amina	**PES**	**FSDM/USMBA-Fès**	**Examinatrice**
Pr. AL HOUARI Ghali	**PES**	**FSDM/USMBA-Fès**	**Examinateur**
Pr. AKHAZZANE Mohamed	**PH**	**CI/USMBA-Fès**	**Examinateur**
Pr. EL YAZIDI Mohamed	**PES**	**FSDM/USMBA-Fès**	**Directeur de thèse**

Année universitaire : 2022-2023

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ceux qui ont consacré leur vie pour mon éducation, et ma réussite, mes très chers parents, mon père et ma mère, les deux meilleurs mots que j'ai prononcés, vous êtes la source de l'amour, la tendresse, le courage et l'espoir ; pour vous je porte tout mon amour, que Dieu vous garde

A mes adorables sœurs et frères, vous étiez toujours pour moi, une source de bonheur et de sérénité. Je vous souhaite beaucoup de succès

A mes chers enseignantes et enseignants, sans aucune exception

A tous mes collègues, ainsi que tous les camarades du laboratoire avec qui j'ai partagé quotidiennement les joies et les soucis de la recherche

A toutes les personnes qui m'ont donné le courage et l'espoir durant toutes ces années de recherche

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Avant-Propos

Avant de décrire le travail de thèse que j'ai effectué dans le *Laboratoire d'Ingénierie des Matériaux Organométalliques et Moléculaires et Environnement* (LIMOME) au sein de l'équipe de recherche « *Synthèse des Hétérocycles à Visée Thérapeutique* » de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès, je voudrais sincèrement remercier des personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la foi et de m'avoir permis d'arriver à ce stade.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude à mon cher professeur **EL YAZIDI Mohamed** pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche, la confiance qu'il m'a toujours accordée et la liberté nécessaire à l'accomplissement de mes travaux, ainsi que ses nobles qualités humaines. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour les précieux conseils prodigués, pour sa disponibilité, sa gentillesse et sa rigueur scientifique durant la réalisation de ce travail. J'ai admiré avec beaucoup de respect son encadrement hautement apprécié et sa compréhension dont il a fait preuve durant les années de recherche. Son encadrement assidu, sa capacité d'écoute et de conseil tout autant que sa patience m'ont permis de progresser et de m'épanouir durant cette thèse, dans la réussite comme dans la difficulté. Je le remercie aussi pour les efforts déployés pour la rédaction de ma thèse.

Je suis également redevable aux membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait par leur acceptation d'examiner le contenu de ce manuscrit et de l'enrichir par leurs remarques pertinentes et constructives :

Monsieur **LACHKAR Mohammed**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès, a accepté de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur **BOUGRIN Khalid**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, s'est manifesté favorablement pour examiner mon travail de thèse en tant que rapporteur et examinateur, je lui exprime mes sincères remerciements.

Monsieur **SAFI Mohamed**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia, est vivement remercié pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être rapporteur et examinateur de ma thèse.

Avant-Propos

Monsieur **ALAMI Anouar**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès, a accepté d'être rapporteur et examinateur de ma thèse je le remercie vivement pour son sacrifice malgré ses diverses préoccupations.

Monsieur **BEN HADDA Taibi**, Professeur à la Faculté des Sciences de Oujda, a contribué efficacement dans l'élaboration de certaines publications. Un grand merci pour ses précieuses remarques et suggestions, ainsi que pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être membre de jury de ma thèse.

Madame **BARI Amina**, Professeur à la Faculté des Sciences de Fès, qui a voulu faire partie de jury de ma thèse. Qu'elle trouve ici mes vifs remerciements.

Monsieur **AL HOUARI Ghali**, Professeur à la Faculté des Sciences de Fès, a accepté de siéger au jury de ma thèse, je lui adresse mes sincères remerciements. Je tiens encore à lui exprimer ma profonde gratitude pour son aide, nos discussions scientifiques et ses conseils. J'ai appris beaucoup de choses durant les mois de stage de master que j'avais passé avec lui avant de commencer ce projet de thèse.

Mes remerciements s'adressent également aux professeurs **EL AMMARI Lahcen** et **SAADI Mohamed** de la Faculté des Sciences de Rabat, pour l'aide efficace qu'ils m'ont apporté par la réalisation des analyses par diffraction des rayons X sur monocristal, ainsi que l'affinement structural pour les composés synthétisés au cours de mon travail

J'associe à ces remerciements monsieur le professeur **AKHAZZANE Mohamed** pour sa patience, sa disponibilité, ses discussions enrichissantes surtout dans le domaine de la spectroscopie, la confiance et le soutien qu'il m'a toujours accordés. Il a contribué efficacement à l'élaboration de ce travail par la réalisation de toutes les analyses spectroscopiques et spectrométriques.

Mes plus vifs remerciements et ma profonde gratitude vont également au professeur **BAKHOUCH Mohamed** pour sa gentillesse, sa bonne humeur indéfectible et pour les conseils louables et inlassables que soit personnels ou professionnels qu'il a bien voulu me consentir durant les années de recherche. Ses conseils scientifiques et son savoir-faire m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à tous les membres de la Plateforme Technologique de la Cité d'innovation (**C.I.**) de l'USMBA pour la réalisation de toutes les analyses effectuées dans ce travail.

Avant-Propos

Mes remerciements vont également à tous les membres de LIMOME et les professeurs du département de Chimie pour leurs conseils scientifiques et humains durant ma formation. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Mes vifs remerciements vont à tous mes anciens et actuels collègues de LIMOME : Aziz ARZINE, Yassine RHAZI, Najoua BARGHADY, Youssra KANZOUAI, Rachid BOUZAMMIT, Fatima zohra NOUATY, Asmae MAHFOUD, Sara HAJIB, Khadim DIOUKHANE, Serigne Abou Khadir FALL, Salaheddine BOUKHSSAS avec qui j'ai partagé quotidiennement les joies et les soucis de la recherche, ainsi que pour toutes nos discussions et les bons moments passés ensemble.

Je ne saurais oublier de remercier les personnes qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à la réalisation de ce travail, je nomme en particulier : Pr. Samir CHTITA, Abdelfattah EL MOUSSAOUI, Dr. Mohamed BOURAS, Khalid CHEBBAC, Anouar AMEZIANE EL HASSANI, Pr. Burak TÜZÜN, Fatima Zahrae MOUSSAID, Ossama DAOUI, Hamza SAGHROUCHNI, Hassan NOUR, Pr. Bahsis LAHOUCINE, Mohammed BOURHIA.

Durant ma thèse, j'ai fait la connaissance de plusieurs personnes, dont la gentillesse, la motivation et les encouragements m'ont permis d'oublier les moments difficiles au cours de mes années de recherche, Dr. Abdelmoula EL ABBOUCHI, Bouchra ES-SOUNNI, Dr. Asmae NAKKABI, Dr. Redouane OUAFI, Pr. Fathellah LAGHRIB, Abdelkrim AGOUR. Pardon à celles et ceux que j'ai oublié de citer.

Mes vifs remerciements à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Enfin, je voudrais remercier mes parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur patience, leur soutien et leurs sacrifices, mes frères bien aimés : Nabil, Houssam et en particulier Imad pour son soutient sous toutes les formes, mes adorables sœurs : Siham, Farah et Kawtar. Qu'ils trouvent à travers ce travail l'expression de ma profonde reconnaissance et ma gratitude.

Résumé

Le présent travail avait pour but, la mise au point de méthodes de synthèse permettant l'accès d'une façon efficace à de nouveaux systèmes hétérocycliques, la caractérisation structurale et la recherche des propriétés biologiques *in vitro*, en utilisant comme produits de départ les 2-arylidène-indolin-3(*2H*)-ones dites aza-aurones.

Nous avons d'abord élaboré une série de dérivés de l'aza-aurone, que nous avons engagé par la suite dans des réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 avec les nitrilimines afin de synthétiser des spiropyrazolines. Ces réactions de cycloaddition ont montré une grande régiosélectivité et ont abouti à un seul régioisomère dans tous les cas étudiés. Le traitement des composés spiraniques par l'acide chlorhydrique à chaud, nous a permis de générer des intermédiaires de type 5-(2-aminobenzoyl)-3,4-diaryl-1-phénylpyrazoles. Les produits pyrazoliques ainsi obtenus sont engagés dans des réactions de N-alkylation, N-acylation et N-sulfonation pour donner une chimiothèque de composés pyrazoliques différemment substitués et fonctionnalisés. En outre, les produits issus de la réaction de la N-alkylation avec le bromure d'allyle sont utilisés comme dipolarophiles dans la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec des dipoles-1,3 de type nitriles oxydes et nitrilimines. Ces réactions conduisent à la formation de nouveaux systèmes hétérocycliques hybrides renfermant dans leur squelette le motif pyrazole couplé à l'isoxazoline d'une part et la pyrazoline d'autre part, liés entre eux par un espaceur méthylaminobenzoyle. Toutes les réactions entreprises s'effectuent correctement dans la plupart des cas, et donnent les produits souhaités avec des bons rendements en produits purs. Les structures de tous les produits synthétisés ont été établies par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN^{1}H, RMN^{13}C et RMN 2D (COSY ^{1}H-^{1}H et HSQC ^{1}H-^{13}C)) et par la spectrométrie de masse et analyse élémentaire. Les structures sont confirmées davantage et sans ambigüité par diffraction aux rayons X sur monocristal dans le cas de l'obtention des monocristaux.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro* des composés synthétisés, vis-à-vis d'une série des souches pathogènes a révélé des activités remarquables pour la majorité des composés testés. Elle a aussi montré que les modifications structurales réalisées sur la structure de pyrazole, ont permis d'améliorer remarquablement l'activité biologique. De plus, certains composés testés pour leur activité antioxydante ont manifesté une capacité de piégeage des radicaux libres très significative.

Mots-clés : Aza-aurone, pyrazole, système hétérocyclique hybride, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante.

Summary

The objective of the present work is to develop synthetic methods allowing efficient access to new heterocyclic systems, structural characterization, and *in vitro* biological properties research, employing as starting materials 2-arylidene-indolin-3(2H)-ones called aza-aurones.

Firstly, we prepared a series of aza-aurone derivatives, which we subsequently engaged in 1,3-dipolar cycloaddition reactions with nitrilimines to synthesize spiropyrazolines. These cycloaddition reactions showed high regioselectivity and resulted in a single regioisomer in all cases studied. Then, the treatment of the spiro-compounds with hydrochloric acid under heat, allowed us to generate 5-(2-aminobenzoyl)-3,4-diaryl-1-phenylpyrazole intermediates. The pyrazole products thus obtained are engaged in N-alkylation, N-acylation and N-sulfonation reactions to give a chemical library of differently substituted and functionalized pyrazole compounds. In addition, the products from the N-alkylation reaction with allyl bromide are used as a dipolarophile in the 1,3-dipolar cycloaddition reaction with 1,3-dipoles of the nitrile oxide and nitrilimine types. These reactions result in the creation of novel hybrid heterocyclic systems incorporating into their skeletons the pyrazole motif coupled to isoxazoline on the one hand and pyrazoline on the other, linked together through a methylaminobenzoyl linker. In most cases, all the reactions undertaken proceed correctly and give the desired products with good yields of pure products. The structures of all the synthesized compounds were established by the usual spectroscopic methods (IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and 2D-NMR (^{1}H-^{1}H COSY and ^{1}H-^{13}C HSQC)) and by mass spectrometry. The structures are further confirmed unambiguously by single-crystal X-ray diffraction studies.

The *in vitro* antimicrobial activity assessment of the synthesized compounds against pathogenic microbes, including Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as yeasts, revealed remarkable activities for the most of the tested compounds. It also demonstrated that the structural modifications made to the pyrazole structure resulted in a remarkable enhancement of the biological activity. Moreover, some of the compounds tested for their antioxidant activity were found to have a very significant free radical scavenging capacity.

Key-words: Aza-aurone, pyrazole, hybrid heterocyclic systems, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Productions Scientifiques

Publications

P-1) **M. Chalkha**, A. A. El Hassani, A. Nakkabi, B. Tüzün, M. Bakhouch, A.T. Benjelloun, M. Sfaira, M. Saadi, L. El Ammari, M. El Yazidi, *Crystal structure, Hirshfeld surface and DFT computations, along with molecular docking investigations of a new pyrazole as a tyrosine kinase inhibitor*, ***Journal of Molecular Structure***, 1273 (**2023**) 134255. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134255. (**Elsevier**, IF: 3,84, Q2)

P-2) **M. Chalkha**, H. Nour, K. Chebbac, A. Nakkabi, L. Bahsis, M. bakhouch, M. Akhazzane, M. Bourass, S. Chtita, M. El yazidi, *Synthesis, characterization, DFT mechanistic study, antimicrobial activity, molecular modeling and ADMET properties of novel pyrazole-isoxazoline hybrids*, ***ACS Omega***, **2022**. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05788. (**American Chemical Society**, IF: 4,13, Q1)

P-3) **M. Chalkha**, A. Nakkabi, T. Ben Hadda, M. Berredjem, A. El Moussaoui, M. Bakhouch, M. Saadi, L. El Ammari, F.A. Almalki, H. Laaroussi, V. Jevtovic, M. El Yazidi, *Crystallographic study, biological assessment and POM/Docking studies of pyrazoles-sulfonamide hybrids (PSH): Identification of a combined Antibacterial/Antiviral pharmacophore sites leading to in-silico screening the anti-Covid-19 activity*, ***Journal of Molecular Structure***, 1267 (**2022**) 133605. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133605. (**Elsevier**, IF: 3,84, Q2)

P-4) **M. Chalkha**, A. El Moussaoui, T. Ben Hadda, M. Berredjem, A. Bouzina, F.A. Almalki, H. Saghrouchni, M. Bakhouch, M. Saadi, L. El Ammari, M.H. Abdellatiif, M. El Yazidi, *Crystallographic study, biological evaluation and DFT/POM/Docking analyses of pyrazole linked amide conjugates: Identification of antimicrobial and antitumor pharmacophore sites*, ***Journal of Molecular Structure***, 1252 (**2022**) 131818. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131818. (**Elsevier**, IF: 3,84, Q2)

P-5) **M. Chalkha**, M. Akhazzane, F.Z. Moussaid, O. Daoui, A. Nakkabi, M. Bakhouch, S. Chtita, S. Elkhattabi, A. Iraqi Housseini, M. El Yazidi, *Design, synthesis, characterization, in vitro screening, molecular docking, 3D-QSAR, and ADME-Tox investigations of novel pyrazole derivatives as antimicrobial agents*, ***New Journal of Chemistry***, 46 (**2022**) 2747–2760. https://doi.org/10.1039/d1nj05621b. (**Royal Society of Chemistry**, IF: 3.92, Q1)

P-6) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, M. Akhazzane, M. Bourass, Y. Nicolas, G. Al Houari, M. El Yazidi, *Design, synthesis and characterization of functionalized pyrazole derivatives bearing amide and sulfonamide moieties from aza-aurones*, ***Journal of Chemical Sciences***, 132 (**2020**) 86. https://doi.org/10.1007/s12039-020-01792-3. (**Springer**, IF: 2.15, Q3)

Article soumis

P-1) **M. Chalkha**, K. Chebbac, H. Nour, A. Nakkabi, A. El Moussaoui, M. Bourhia, B.Tüzün, A. M. Salamatullah, S. Chtita, M. Bakhouch, H. Laaroussi, S. M. A Abe Kawsar, T. Ben Hadda, H.-A. Nafidi, M. A. M. Aboul-Soud and M. El Yazidi, *In Vitro and In Silico*

Productions Scientifiques

Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Synthesized Spiropyrazoline Oxindole Congeners. **Manuscript ID**: ao-2022-06002v, ***ACS Omega.***

Communications orales

CO-1) **M. Chalkha**, Y.Rhazi, A. El Moussaoui, K. Chebbac, N. Barghady, A. Arzine, A. Nakkabi, M. Akhazzane, M. Bakhouch, M. El Yazidi, "Synthèse d'une nouvelle génération de molécules hétérocycliques azotés et étude de leur activité antioxydante et antimicrobienne", **the 6th International Conference on Materials and Environment : 'ICME 6-2022'**, 19-20 Décembre 2022, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès au Maroc.

CO-2) **M. Chalkha**, Y.Rhazi, A. El Moussaoui, K. Chebbac, N. Barghady, A. Arzine, A. Nakkabi, M. Akhazzane, M. Bakhouch, M. El Yazidi, "Synthèse, caractérisation et évaluation biologique de nouveaux systèmes hétérocycliques à partir des aza-aurones", **Cinquième Colloque Maghrébin sur la Chimie Hétérocyclique CMCH 5-2022**, 13, 14 & 15 Juillet 2022, Webinaire, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès au Maroc et L'Association Tunisienne de Chimie Hétérocyclique et ses Applications (STCHA) en Tunisie.

CO-3) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, N. Barghady, Y. Kanzouai, A. Mahfoud, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, " Synthèse de nouveaux composés polyhétérocycles hybrides à visée thérapeutiques a partir des aza-aurones", **Quatième forum du Pôle de Biotechnologie,** le 20 Décembre 2018, Faculté Des Sciences Dhar El Marhaz-Fès, Maroc. (**deuxième prix de la meilleure présentation**)

CO-4) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, Y. Kanzouai, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthesis of new heterocycles polycyclic containing pyrazole moeity", **3ème Workshop international "Chimie Médicinale et Phytochimie**", 19-20 septembre 2018, Mohammedia, Maroc.

CO-5) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthèse et caractérisations de nouvelles molécules hybrides à partir des aza-aurones", **2ème Rencontre International sur les Molécules Bioactives et Matériaux Organiques** (***RIMBMO***), 25 et 26 avril 2018, Faculté des Sciences et Techniques-Fès, Maroc.

Communications par Affiches

CA-1) **M. Chalkha**, A. Arzine, Y.Rhazi, N. Barghady, A. Nakkabi, M. Bakhouch, M. Akhazzane, M. El Yazidi, "Nouvelles méthodologies de synthèse de nouveaux composés pyrazoliques à partir des aza-aurones", **the 6th International Conference on Materials and Environment**, 19-20 Décembre 2022, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, Meknès au Maroc.

CA-2) **M. Chalkha**, A. Arzine, Y. Rhazi, N. Barghady, A. Nakkabi, M. Bakhouch, M. Akhazzane & M. El Yazidi, "Conception, synthèse et caractérisation structurale de nouveaux hétérocycles à base de pyrazole", **Cinquième Colloque Maghrébin sur la Chimie Hétérocyclique**, 13, 14 & 15 Juillet 2022, Webinaire, Faculté des Sciences,

Université Moulay Ismail, Meknès au Maroc et L'Association Tunisienne de Chimie Hétérocyclique et ses Applications en Tunisie.

CA-3) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, N. Barghady, A. Mahfoud, Y. Kanzouai, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthesis of heterocycle hybrids bearing pyrazole pharmacophore from azaaurones derivatives", **International colloquium: valorization of natural and synthetic biomolecules in novel drug-vector nanostructures**, 15-16 April 2019, FSDM Fez, Morocco.

CA-4) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthesis of pyrazoles containing sulfonamide moiety from aza-aurones", **3ème Workshop international** "**Chimie Médicinale et Phytochimie**", 19-20 septembre 2018, Mohammedia, Maroc.

CA-5) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "synthèse de pyrazoles diversement fonctionnalisées à partir des aza-aurones", **2nd internationnal meeting on bioactive molecules and organiques materials**, les 25-26 Avril 2018 à l'Université Sidi Mohammed Ben Abdallah Faculté des Sciences et Techniques Fès.

CA-6) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "synthèse de nouveaux pyrazoles tétrasubsitués à partir des aza-aurones via les reactions de cycloaddition dipolaire-1,3 et de N-alkylation", **2nd internationnal meeting on bioactive molecules and organiques materials**, les 25-26 Avril 2018 à l'Université Sidi Mohammed Ben Abdallah Faculté des Sciences et Techniques Fès.

CA-7) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, M. Driouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, M. Sfaira. G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "synthèse, caractérisation et propriétés anticorrosion de nouveaux systèmes hétérocycliques à base de pyrazole contre la corrosion d'un acier doux en milieu HCL 1 M", **2nd internationnal meeting on bioactive molecules and organiques materials**, les 25-26 Avril 2018 à l'Université Sidi Mohammed Ben Abdallah Faculté des Sciences et Techniques Fès.

CA-8) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthèse et caractérisation de nouveaux précurseurs de molécules hétérocycliques hybrides à partir des aza-aurones", **troisième édition du congrès international des Sciences pharmaceutiques**, les 16-17 février 2018 à La FST de Beni Mellal.

CA-9) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthèse de nouvelles classes de pyrazoles portants une des fonctions amide et sulfonamide", **Troisième édition du congrès international des Sciences pharmaceutiques**, les 16-17 février 2018 à La FST de Beni Mellal.

CA-10) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, G. Al houari, M. Daoudi, M. El yazidi, "*Synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à visée thérapeutique à partir des aza-aurones*", **Troisième forum du Pôle de Biotechnologie**, 26 Décembre 2017, Faculté Des Sciences Dhar El Marhaz-Fès, Maroc.

CA-11) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, M. Akhazzane, G. Al houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Michael addition of nitrogen-heterocycles on chalcones towards β-heteroarylated

(C–N bond)", **9th Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry**, 22-25 Novembre 2017, Fès, Maroc.

CA-12) **M. Chalkha**, M. Bakhouch, A. Mahfoud, G. Al Houari, M. Daoudi, M. El Yazidi, "Synthèse et caractérisation des isoxazoles-3,4,5-trisubstitués dérives de la thioaurone", **Rencontre Nationale sur les Molécules Bioactives et Matériaux Organiques**, le 27 Mars 2017 à l'Université Sidi Mohammed Ben Abdallah Faculté des Sciences et Techniques, Fès.

Avertissement

Cette thèse comporte quatre chapitres. Pour une lecture plus aisée, la numérotation des schémas, des figures et des tableaux est renouvelée pour chaque chapitre. Les références bibliographiques et la partie expérimentale (procédures et protocoles ainsi que les caractéristiques spectroscopiques, spectrométriques, etc) sont rapportées en fin de chaque chapitre. Les composés préparés sont numérotés selon un ordre croissant.

Les points de fusion ont été déterminés avec une incertitude de ± 2 °C à l'aide d'un BANC KOFLER préalablement étalonné. Les spectres de la résonance magnétique nucléaire (1D et 2D) ont été enregistrés à l'aide d'un appareil BRUKER AVANCE II à température ambiante (300 MHz pour le ^{1}H et 75 MHz pour le ^{13}C). La fréquence de l'appareil et les solvants utilisés sont précisés dans la partie expérimentale. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm et les constantes de couplage en Hz. Les spectres IR ont été enregistrés à température ambiante à l'aide d'un spectromètre BRUKER VERTEX 70 à transformée de Fourier et seules les fréquences significatives de bandes d'absorption de groupements fonctionnels majeurs sont citées et exprimées en cm^{-1}.

Les analyses élémentaires (CHNS) ont été effectuées sur un analyseur élémentaire FlashSmart (Thermo Fisher Scientific). Les spectres de masse à haute résolution ont été enregistrés sur un spectromètre Waters/Vion IMS-QTOF.

Tous les spectres RMN, IR et de masse ont été effectués à la cité d'innovation (C.I.) de l'USMBA, à l'exception de quelques spectres de masse qui ont été enregistrés sur un spectromètre de masse Qexactive (Thermo) à Institut des Sciences Moléculaires de Bordeaux, France.

Les études par diffraction des rayons X sur monocristal ont été réalisées au centre des Sciences des Matériaux, Faculté des Sciences, Université Mohammed V Rabat. Elles ont été effectuées à l'aide d'un diffractomètre Bruker D8 VENTURES Super DUO équipé d'un Photon100 CMOS area-detector. La longueur d'onde utilisée est celle du molybdène (λ Kα = 0.71073 Å).

Le suivi des réactions par CCM a été réalisé sur des plaques en aluminium recouvertes de gel de silice prêtes à l'emploi (Merck 60 F254, épaisseur : 0,2 mm). Après développement des plaques dans l'éluant adéquat, ces dernières sont visualisées à l'aide d'une lampe UV (254-365 nm). Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur du gel de silice Merck 60 (230-400 Mesh). La plupart des solvants sont distillés avant utilisation. Les autres produits commerciaux ont été utilisés dans la majorité des cas sans purification préalable.

Liste des abréviations et des symboles

Abréviations

A

APTS : acide paratoluènesulfonique
Ac : Acétyle
Ar : aryle
AAG : acide acétique glacial

B

BHT : Butylhydroxytoluène
Bn : Benzyle
BTBA : Bromure de tétrabutylammonium

C

CMI : concentration minimale inhibitrice
CPME : Cyclopenthyl méthyl éther
CCM : Chromatographie sur couche mince
Cat : Catalyseur

D

DIPEA : *N*,*N*-diisopropyléthylamine
DCM : Dichlorométhane
DPPH$^{\bullet}$: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DCE : Dichloroéthane
DMAc : *N*,*N* diméthylacétamide
DMF : Diméthylformamide
DMAP : 4-dimethylaminopyridine
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DPNI : diphénylnitrilimine
d : Doublet
dd : Doublet de doublet

E

ee : excès énantiomérique
Et : Ethyle
équiv : équivalent

G

GP : Groupement Partant

H

HT-29 : Adénocarcinome du colon
HepG-2 : cancer du foie humain
Hela : cancer du col de l'utérus
h : Heure
HFIP : hexafluoroisopropanol
Hz : Hertz
HSQC : Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy

I

IR : Infrarouge
***IC*$_{50}$** : Concentration inhibitrice à 50%

M

ml : millilitre
MDR-TB : multidrug-resistant tuberculosis
mCPBA : acide métachloroperbenzoïque
m : Multiplet
min : Minutes
mol : mole
***m*-** : Métha
Me : Méthyle
MeOH : Méthanol
MHz : Mégahertz
MCF7 : Cancer du sein

N

NHC : carbène N-hétérocyclique
N° : Numéro de produit

O

***o*-** : Ortho

P

PEG : polyéthylène glycol
P.f. : Point de fusion
Ph : phényle
ppm : Partie par million
***p*-** : Para

R

Rdt : Rendement
R- : Substituant R
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
rd : rapport diastéréomérique

T

TMS : Tétraméthylsilane
THF : Tétrahydrofurane
t.a. : Température Ambiante
TMEDA : Tétraméthyléthylènediamine
t : Triplet
td : Triplet de doublet
***t*Bu** : tert-Butyle

S

SN : Substitution Nucléophile
s : Singulet

X

XDR-TB : tuberculose ultrarésistante (Extensively Drug-Resistant Tuberculosis)

Symboles

°C : Degré Celsius
υ : Fréquence de vibration
J : Constante de couplage
Δ : Reflux
δ : Déplacement chimique
µM : micromole

Table des matières

Dédicaces ..... **ii**
Avant-Propos ..... **iii**
Résumé ..... **vi**
Summary ..... **vii**
Productions Scientifiques ..... **viii**
Avertissement ..... **xii**
Liste des abréviations et des symboles ..... **xiii**
Introduction générale 1
Références bibliographiques 4
Chapitre I : Synthèse des aza-aurones 7
I. Introduction 8
II. Intérêt biologique des dérivés de l'aza-aurone 9
II.1. Activité antituberculeuse 9
II.2. Activité antimicrobienne 10
II.3. Activité anticancéreuse 10
II.4. Activité Antipaludique 13
III. Méthodes de synthèse des dérivés de l'aza-aurone 15
III.1. Synthèse multi-étape 15
III.1.1. A partir de l'aniline 15
III.1.2. A partir de l'ortho-nitroacétophénone 16
III.2. Synthèse one-pot 16
III.3. Synthèse en une seule étape 17
IV. Réactivité des aza-aurones 19
IV.1. Synthèse des composés tricycliques à partir des aza-aurones 19
IV.2. Synthèse des composés spirocycliques à partir des aza-aurones 21
V. Synthèse des dérivés de l'aza-aurone au laboratoire 25
*a) Spectre IR du composé **1a*** 26
*b) Etude spectrale RMN ^{1}H du composé **1a*** 26
*c) Etude spectrale RMN ^{13}C de l'aza-aurone **1a*** 27
VI. Conclusion 29
Partie expérimentale 30
a) Synthèse de l'acide orthophénylglycine carboxylique 30
b) Synthèse du diacétylindoxyle 30

Table des matières

*c) Synthèse des aza-aurones **1(a-e)*** 31

Références bibliographiques 33

Chapitre II : Synthèse et évaluation biologique des spiropyrazolines indolin-3-ones 37

I. Introduction 38

II. Méthodes de synthèse des spiropyrazoline oxindoles 40

II.1. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction de cyclo-condensation 40

II.2. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction de cycloaddition dipolaire-1,342

II.2.1. Les dipôles-1,3 nitrile imines 42

II.2.2. Les dipôles-1,3 diazo phosphorylés 45

II.3. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction multi-composante 47

II.4. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par des azoesters 48

II.5. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par des azoalcènes 50

III. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles à partir de l'aza-aurone 51

III.1. Détermination structurale des cycloadduits obtenus 52

III.1.1. Spectroscopie infrarouge 53

III.1.2. Spectroscopie RMN ^{1}H 53

III.1.3. Spectroscopie RMN ^{13}C 54

IV. Evaluation biologique des spiropyrazolines synthétisés 56

IV.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante 56

IV.1.1. Les radicaux libres 57

IV.1.2. Les antioxydants 57

IV.1.3. Méthodologies utilisées pour l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante 58

IV.1.3.1. Test DPPH$^{\bullet}$: Principe de la méthode 58

IV.1.3.2. Méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) 59

IV.1.4. Evaluation in vitro du pouvoir antioxydant des composés **3(a-i)** 59

IV.1.4.1. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH) 59

IV.1.4.2. Test FRAP 61

IV.2. Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne 62

IV.2.1. Méthodologies utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne 63

IV.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des spiropyrazoline oxindoles synthétisés 65

V. Conclusion 70

Partie expérimentale 71

Table des matières

a) Synthèse des précurseurs des diarylnitrilimines 71

Préparation des *β*-aroylphénylhydrazines 71

Synthèse de *α*-chloroarylidènephénylhydrazone 71

*b) Synthèse des spiropyrazoline oxindoles **3(a-i)*** 72

c) *Méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante* 74

Test DPPH 74

Test du pouvoir réducteur 75

d) Protocoles générales utilisés dans les tests antimicrobiens 75

Préparation de l'inoculum 75

Méthode de disque 76

Détermination de la CMI 76

Références bibliographiques 78

Chapitre III : Synthèse et évaluation biologique des dérivés pyrazoliques tétrasubstitués 86

I. Introduction 87

II. Structure du pyrazole 87

III. Intérêt biologique des pyrazoles 88

III.1. Produits naturels contenant le pyrazole 88

III.2. Médicaments commercialisés contenant le pyrazole 89

III.3. Propriétés biologiques des dérivés pyrazoliques synthétiques 90

III.3.1. Activité antimicrobienne des pyrazoles 91

III.3.2. Activité antioxydante des pyrazoles 93

IV. Méthodes de synthèse des dérivés de pyrazole 94

IV.1. Réaction de cyclocondensation de l'hydrazine et ses dérivés 95

IV.1.1. Sur les 1,3-dicétones 95

IV.1.2. Sur les composés carbonylés α,β-insaturés 96

IV.2. Approche multicomposante 97

IV.3. Réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 98

IV.3.1. Réactions de cycloaddition avec des dipôles de type diazo 99

IV.3.2. Réactions de cycloaddition avec des sydnones 101

IV.3.3. Réactions de cycloaddition avec des nitrilimines 102

IV.3.3.1. Réaction avec les alcènes 102

IV.3.3.2. Double liaison endocyclique 103

IV.3.3.3. Double liaison exocyclique 104

Table des matières

V. Synthèse des pyrazoles cibles 107
V.1. Synthèse des pyrazoles par transformation des spiropyrazolines 107
V.2. Synthèse des pyrazoles *N*-alkylés 113
V.3. Synthèse des pyrazoles fonctionnalisés 118
V.3.1. Synthèse des pyrazoles portant une fonction amide 118
V.3.2. Synthèse des pyrazoles portants une fonction sulfonamide 124
VI. Activité antimicrobienne des composés synthétisés 127
VI.1. Activité antimicrobienne des 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4**(**a-h**) 127
VI.2. Activité antimicrobienne des composés pyrazoliques N-alkylés (**5-10**) 129
VI.3. Activité antimicrobienne des pyrazoles portant la fonction amide 131
VI.4. Activité antimicrobienne des pyrazoles portants une fonction sulfonamide 132
VII. Activité antioxydante des composés synthétisés 134
VII.1. Activité antioxydante des pyrazoles **4**(**a-h**) et des pyrazoles-sulfonamide **13**(**a-g**) 134
VII.2. Activité antioxydante des pyrazoles portants une fonction amide 135
VIII. Conclusion 136
Partie expérimentale 138
*a) Synthèse des 5-(2 aminobenzoyl)pyrazoles **4(a-i)*** 138
*b) Procédure de Synthèse des pyrazoles cibles **5-10*** 140
*c) Synthèse des pyrazoles portants la fonction acétamide **11(a-h)*** 146
*d) Synthèse des pyrazoles portants la fonction amide **12(a-h)*** 148
*e) Synthèse des pyrazoles portants la fonction sulfonamide **13(a-g)*** 151
f) Diffraction des rayons X sur monocristal 154
Références bibliographiques 155
Chapitre IV : Synthèse et propriétés biologiques des molécules hybrides 164
I. Introduction 165
II. Rappel bibliographique sur les molécules hybrides 167
II.1. Concept molécule hybride 167
II.2. Les molécules hybrides à base de pyrazole 168
III. Synthèse de molécules hybrides à base de pyrazole 172
III.1. Synthèse de molécule hybride pyrazole-isoxazoline 173
III.2. Synthèse de molécule hybride pyrazole-pyrazoline 180
IV. Activité antimicrobienne et étude de la relation structure-activité 183
V. Conclusion 190

Table des matières

Partie expérimentale 191

*a) Mode opératoire général de synthèse des hybrides pyrazole-isoxazoline **14a-m*** 191

*b) Mode opératoire général de synthèse des hybrides pyrazole-pyrazoline **15a-c*** 197

Références bibliographiques 199

Conclusion générale et perspectives 204

Introduction générale

Les composés hétérocycliques constituent un champ très intéressant pour la recherche de nouveaux médicaments candidats et occupent une place importante en chimie organique en raison de leurs remarquables caractéristiques structurelles et de leurs diverses applications [1–4]. Ils présentent un intérêt majeur dans le domaine biologique, médicinal et thérapeutique (vitamines, antibiotiques, antitumoraux, antioxydants, etc), aussi bien dans le secteur industriel et technologique (inhibiteurs de corrosion, colorants, pesticides, etc) [5–10]. Ceci est la raison pour laquelle la chimie des hétérocycles constitue l'un des axes de recherche les plus étudiés et les plus développés et reste toujours l'une des principales sources de nouvelles molécules médicamenteuses.

Les composés pyrazoliques comptent parmi ces systèmes hétérocycliques dotés de bioactivité importante [8–10]. Ils entrent dans la conception de nombreux produits utilisés dans divers domaines tels que, pharmaceutique, biologique, agricole et médicinal, ce qui les rendent particulièrement attractifs [7–10]. La synthèse de nouveaux dérivés de pyrazole et l'étude de leurs comportements chimique et biologique ont suscité beaucoup d'importance au cours des dernières années, ce qui est traduit par le grand nombre de travaux publiés [11–14]. Les dérivés de pyrazole possèdent des propriétés pharmacologiques intéressantes telles que des activités antibactérienne [11], antioxydante [13], antifongique [15] et autres. D'autre part, les pyrazoles sont utilisés comme matériaux de départ pour la construction de nouvelles substances bioactives, comme réactifs de chélation et d'extraction pour de nombreux ions métalliques lourds [16,17].

Récemment, différentes stratégies novatrices ont été conçues pour la conception et la découverte de nouveaux candidats-médicaments prometteurs capables de remédier à diverses pathologies [18,19]. Parmi elles, l'introduction de modification structurale dans la structure d'une substance bioactive d'origine naturelle ou synthétique, ou bien l'association de deux ou plusieurs pharmacophores dans un seul squelette moléculaire [20]. Ces approches ont déjà été utilisées avec succès pour le développement de nouvelles classes d'entités structurelles à vocation médicinale avec de nouveaux mécanismes d'action [20–22]. Parmi eux, de nombreux pyrazoles fonctionnalisés sont déjà disponibles sur le marché en tant que médicaments pour le traitement de certaines pathologies [23,24]. De même, des analogues hybrides dont le squelette est formé de pharmacophore pyrazole et d'autres hétérocycles biologiquement actifs ont montré des applications pharmaceutiques potentielles grâce à l'effet synergique des deux pharmacophores [25,26]. Il devient donc cohérent d'intensifier la recherche dans ce domaine

sachant que les hétérocycles azotés restent une source d'inspiration fructueuse pour les industries pharmaceutiques et médicinales.

Compte tenu des effets bénéfiques montrés par les hétérocycles, les axes de recherche développés au sein de notre laboratoire, et particulièrement notre équipe de recherche « *Synthèse des Hétérocycles à Visée Thérapeutique* » sont orientés vers la synthèse de nouveaux composés hétérocycliques originaux [27–29] et l'évaluation par la suite de leurs activités dans les domaines biologiques [30,31]. Dans la continuité de ces travaux de recherche, l'objectif que nous nous sommes fixé dans cette thèse est d'accéder par des méthode de synthèse pratiques et efficaces à de nouveaux composés hétérocycliques azotés en utilisant les 2-arylidène-indolin-3(*2H*)-ones comme matériaux de base, ainsi que l'étude de leurs caractéristiques structurales et leurs applications dans le domaine biologique [32–37].

Les résultats que nous avons obtenus lors de cette étude sont répartis sur quatre chapitres :

Le premier chapitre porte sur la synthèse et la caractérisation des aza-aurones qui constituent les réactifs de base utilisés dans ce travail.

Le deuxième chapitre est consacré à la synthèse des spiropyrazolines via la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des aza-aurones avec les nitrilimines, ainsi qu'une évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des composés obtenus. Un aperçu bibliographique sur les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante est donné dans ce même chapitre.

Dans le troisième chapitre, nous présentons les différentes méthodes de synthèse utilisées pour préparer de nouveaux dérivés de pyrazoles, ainsi que les résultats obtenus des études préliminaires *in-vitro* de l'activité antimicrobienne et antioxydante.

Le quatrième chapitre est dédié à la synthèse de nouveaux hétérocycles hybrides en faisant appel à la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3, suivie de l'évaluation de l'activité antimicrobienne sur quelques souches microbiennes pathogènes.

Chacun des quatre chapitres explorés au cours de cette thèse contient, outre les données bibliographiques les plus intéressantes sur le plan biologique, les différentes méthodes de synthèse utilisées pour accéder aux différents types de composés recherchés. Les résultats auxquels nous sommes parvenus, aussi bien sur le plan synthétique que pour la caractérisation des produits préparés sont décrits et commentés.

En conclusion, nous dressons un bilan des résultats les plus significatifs accompagnés de quelques perspectives.

Références bibliographiques

1. Moustafa, A.H.; Ahmed, D.H.; El-Wassimy, M.T.M.; Mohamed, M.F.A. Synthesis, Antimicrobial Studies, and Molecular Docking of Some New Dihydro-1,3,4-Thiadiazole and Pyrazole Derivatives Derived from Dithiocarbazates. *Synth. Commun.* **2021**, *51*, 570–584, doi:10.1080/00397911.2020.1843179.
2. Sadashiva, R.; Naral, D.; Kudva, J.; Shivalingegowda, N.; Lokanath, N.K.; Pampa, K.J. Synthesis, Spectral, Biological Activity, and Crystal Structure Evaluation of Novel Pyrazoline Derivatives Having Sulfonamide Moiety. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 1213–1227, doi:10.1007/s00044-017-1838-5.
3. Faria, J.V.; Vegi, P.F.; Miguita, A.G.C.; Santos, M.S. dos; Boechat, N.; Bernardino, A.M.R. Recently Reported Biological Activities of Pyrazole Compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 5891–5903, doi:10.1016/j.bmc.2017.09.035.
4. Barbier, T.; Barbry, A.; Magand, J.; Badiou, C.; Davy, F.; Baudouin, A.; Queneau, Y.; Dumitrescu, O.; Lina, G.; Soulère, L. Synthesis and Biological Evaluation of Benzo[b]Thiophene Acylhydrazones as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Staphylococcus Aureus. *Biomolecules* **2022**, *12*, 131, doi:10.3390/biom12010131.
5. Rosdahl, V.T.; Frimodt-mller, N.; Bentzon, M.W. Resistance to Dicloxacillin, Methicillin and Oxacillin in Methicillin-susceptible and Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus Detected by Dilution and Diffusion Methods. *APMIS* **1989**, *97*, 715–722.
6. Sutherland, R.; Croydon, E.A.P.; Rolinson, G.N. Flucloxacillin, a New Isoxazolyl Penicillin, Compared with Oxacillin, Cloxacillin, and Dicloxacillin. *Br. Med. J.* **1970**, *4*, 455–460.
7. Ma, H.-J.; Li, Y.-H.; Zhao, Q.-F.; Zhang, T.; Xie, R.-L.; Mei, X.-D.; Ning, J. Synthesis and Herbicidal Activity of Novel N-(2,2,2)-Trifluoroethylpyrazole Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4356–4360, doi:10.1021/jf9042166.
8. Boustany-Kari, C.M.; Jackson, V.M.; Gibbons, C.P.; Swick, A.G. Leptin Potentiates the Anti-Obesity Effects of Rimonabant. *Eur. J. Pharmacol.* **2011**, *658*, 270–276, doi:10.1016/j.ejphar.2011.02.021.
9. Wyde, P.R.; Gilbert, B.E.; Ambrose, M.W. Comparison of the Anti-Respiratory Syncytial Virus Activity and Toxicity of Papaverine Hydrochloride and Pyrazofurin in Vitro and in Vivo. *Antiviral Res.* **1989**, *11*, 15–26,doi:10.1016/0166-3542(89)90017-X.
10. Tsutomu, K.; Toshitaka, N. Effects of 1,3-Diphenyl-5-(2-Dimethylaminopropionamide)-Pyrazole on a Conditioned Avoidance Response. *Neuropharmacology* **1978**, *17*, 249–256, doi:10.1016/0028-3908(78)90108-9.
11. Verma, R.; Verma, S.K.; Rakesh, K.P.; Girish, Y.R.; Ashrafizadeh, M.; Sharath Kumar, K.S.; Rangappa, K.S. Pyrazole-Based Analogs as Potential Antibacterial Agents against Methicillin-Resistance Staphylococcus Aureus and Its SAR Elucidation. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *212*, 113134, doi:10.1016/j.ejmech.2020.113134.
12. Badgujar, J.R.; More, D.H.; Meshram, J.S. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Pyrazole Based Sulfonamide Derivatives. *Indian J. Microbiol.* **2017**, *58*, 93–99, doi:10.1007/s12088-017-0689-6.
13. Kaddouri, Y.; Abrigach, F.; Yousfi, E.B.; El Kodadi, M.; Touzani, R. New Thiazole, Pyridine and Pyrazole Derivatives as Antioxidant Candidates: Synthesis, DFT Calculations and Molecular Docking Study. *Heliyon* **2020**, *6*, e03185, doi:10.1016/j.heliyon.2020.e03185.
14. Silva, V.L.M.; Elguero, J.; Silva, A.M.S. Current Progress on Antioxidants

Incorporating the Pyrazole Core. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 394–429, doi:10.1016/j.ejmech.2018.07.007.

15. Zhang, X.X.; Jin, H.; Deng, Y.J.; Gao, X.H.; Li, Y.; Zhao, Y.T.; Tao, K.; Hou, T.P. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrazole Carboxamide with Diarylamine-Modified Scaffold as Potent Antifungal Agents. *Chinese Chem. Lett.* **2017**, *28*, 1731–1736, doi:10.1016/j.cclet.2017.04.021.
16. Alimohammady, M.; Jahangiri, M.; Kiani, F.; Tahermansouri, H. Design and Evaluation of Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes by 3-Aminopyrazole for the Removal of Hg(II) and As(III) Ions from Aqueous Solution. *Res. Chem. Intermed.* **2018**, *44*, 69–92, doi:10.1007/s11164-017-3091-4.
17. Alimohammady, M.; Jahangiri, M.; Kiani, F.; Tahermansouri, H. Highly Efficient Simultaneous Adsorption of Cd(II), Hg(II) and As(III) Ions from Aqueous Solutions by Modification of Graphene Oxide with 3-Aminopyrazole: Central Composite Design Optimization. *New J. Chem.* **2017**, *41*, 8905–8919, doi:10.1039/c7nj01450c.
18. Azimi, F.; Azizian, H.; Najafi, M.; Hassanzadeh, F.; Sadeghi-aliabadi, H.; Ghasemi, J.B.; Ali Faramarzi, M.; Mojtabavi, S.; Larijani, B.; Saghaei, L.; et al. Design and Synthesis of Novel Quinazolinone-Pyrazole Derivatives as Potential α-Glucosidase Inhibitors: Structure-Activity Relationship, Molecular Modeling and Kinetic Study. *Bioorg. Chem.* **2021**, *114*, 105127, doi:10.1016/j.bioorg.2021.105127.
19. Lee, J.Y.; Shin, Y.S.; Jeon, S.; Lee, S.I.; Noh, S.; Cho, J.E.; Jang, M.S.; Kim, S.; Song, J.H.; Kim, H.R.; et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of 2-Aminoquinazolin-4(3H)-One Derivatives as Potential SARS-CoV-2 and MERS-CoV Treatments. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2021**, *39*, 127885, doi:10.1016/j.bmcl.2021.127885.
20. Meunier, B. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality? *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 69–77, doi:10.1021/ar7000843.
21. Alkhzem, A.H.; Woodman, T.J.; Blagbrough, I.S. Design and Synthesis of Hybrid Compounds as Novel Drugs and Medicines. *RSC Adv.* **2022**, *12*, 19470–19484, doi:10.1039/D2RA03281C.
22. Klahn, P.; Brönstrup, M. Bifunctional Antimicrobial Conjugates and Hybrid Antimicrobials. *Nat. Prod. Rep.* **2017**, *34*, 832–885, doi:10.1039/c7np00006e.
23. Hassan, G.S.; Abou-Seri, S.M.; Kamel, G.; Ali, M.M. Celecoxib Analogs Bearing Benzofuran Moiety as Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Design, Synthesis and Evaluation as Potential Anti-Inflammatory Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *76*, 482–493, doi:10.1016/j.ejmech.2014.02.033.
24. Giancarlo, G.M.; Venkatakrishnan, K.; Granda, B.W.; Von Moltke, L.L.; Greenblatt, D.J. Relative Contributions of CYP2C9 and 2C19 to Phenytoin 4-Hydroxylation in Vitro: Inhibition by Sulfaphenazole, Omeprazole, and Ticlopidine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *57*, 31–36, doi:10.1007/s002280100268.
25. Bekhit, A.A.; Hassan, A.M.M.; Abd El Razik, H.A.; El-Miligy, M.M.M.; El-Agroudy, E.J.; Bekhit, A.E.D.A. New Heterocyclic Hybrids of Pyrazole and Its Bioisosteres: Design, Synthesis and Biological Evaluation as Dual Acting Antimalarial-Antileishmanial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 30–44, doi:10.1016/j.ejmech.2015.02.038.
26. Dai, H.; Huang, M.; Qian, J.; Liu, J.; Meng, C.; Li, Y.; Ming, G.; Zhang, T.; Wang, S.; Shi, Y.; et al. Excellent Antitumor and Antimetastatic Activities Based on Novel Coumarin/Pyrazole Oxime Hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 470–479, doi:10.1016/j.ejmech.2019.01.070.
27. Bakhouch, M.; Houari, G. Al; Daoudi, M.; Kerbal, A.; Yazidi, M. El Michael Addition of Active Methylene Compounds to (Z)-2-Arylidenebenzo[b]Thiophen-3(2H)-Ones.

Mediterr. J. Chem. **2015**, *4*, 9–17, doi:10.13171/mjc.4.1.2015.16.02.09.20/elyazidi.

28. Boughaleb, A.; Akhazzane, M.; Al Houari, G.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des Arylnitriloxydes Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Thiophèn-3(2H)- One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2011**, *13*, 117–122.
29. Boughaleb, A.; Houari, G. Al; Bennani, B.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des N-Phényl-C-Arylnitrilimines Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Tiophèn-3(2H)-One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2010**, *12*, 109–115.
30. Bennani, B.; Kerbal, A.; Daoudi, M.; Baba, B.F.; Houari, G. Al; Jalbout, A.F.; Mimouni, M.; Benazza, M.; Demailly, G.; Akkurt, M.; et al. Combined Drug Design of Potential Mycobacterium Tuberculosis and HIV-1 Inhibitors: 3',4'-Di-Substituted - 4'H-Spiro [Isothiochromene-3,5'-Isoxazol]-4(1H)-One. *ARKIVOC* **2007**, *xvi*, 19–40.
31. Ben Hadda, T.; Kerbal, A.; Bennani, B.; Al Houari, G.; Daoudi, M.; Leite, A.C.L.; Masand, V.H.; Jawarkar, R.D.; Charrouf, Z. Molecular Drug Design, Synthesis and Pharmacophore Site Identification of Spiroheterocyclic Compounds: Trypanosoma Crusi Inhibiting Studies. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 57–69, doi:10.1007/s00044-012-0010-5.
32. Chalkha, M.; Moussaoui, A. El; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Bouzina, A.; Almalki, F.A.; Saghrouchni, H.; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; et al. Crystallographic Study, Biological Evaluation and DFT/POM/Docking Analyses of Pyrazole Linked Amide Conjugates: Identification of Antimicrobial and Antitumor Pharmacophore Sites. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1252*, 131818, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131818.
33. Chalkha, M.; Nakkabi, A.; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Moussaoui, A. El; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; Almalki, F.A.; Laaroussi, H.; et al. Crystallographic Study, Biological Assessment and POM/Docking Studies of Pyrazoles-Sulfonamide Hybrids (PSH): Identification of a Combined Antibacterial/Antiviral Pharmacophore Sites Leading to in-Silico Screening the Anti-Covid-19 Activity. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1267*, 133605, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133605.
34. Chalkha, M.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Nicolas, Y.; Al Houari, G.; El Yazidi, M. Design, Synthesis and Characterization of Functionalized Pyrazole Derivatives Bearing Amide and Sulfonamide Moieties from Aza-Aurones. *J. Chem. Sci.* **2020**, *132*, 86, doi:10.1007/s12039-020-01792-3.
35. Chalkha, M.; Nour, H.; Chebbac, K.; Nakkabi, A.; Bahsis, L.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Chtita, S.; A. Bin Jardan, Y.; et al. Synthesis, Characterization, DFT Mechanistic Study, Antimicrobial Activity, Molecular Modeling, and ADMET Properties of Novel Pyrazole-Isoxazoline Hybrids. *ACS Omega* **2022**, *7*, 46731–46744, doi:10.1021/acsomega.2c05788.
36. Chalkha, M.; Akhazzane, M.; Moussaid, F.Z.; Daoui, O.; Nakkabi, A.; Bakhouch, M.; Chtita, S.; Elkhattabi, S.; Iraqi Housseini, A.; El Yazidi, M. Design, Synthesis, Characterization, in Vitro Screening, Molecular Docking, 3D-QSAR, and ADME-Tox Investigations of Novel Pyrazole Derivatives as Antimicrobial Agents. *New J. Chem.* **2022**, *46*, 2747–2760, doi:10.1039/d1nj05621b.
37. Chalkha, M.; Ameziane el Hassani, A.; Nakkabi, A.; Tüzün, B.; Bakhouch, M.; Benjelloun, A.T.; Sfaira, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; Yazidi, M. El Crystal Structure, Hirshfeld Surface and DFT Computations, along with Molecular Docking Investigations of a New Pyrazole as a Tyrosine Kinase Inhibitor. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1273*, 134255, doi:10.1016/J.Molstruc.2022.134255.

Chapitre I : Synthèse des aza-aurones

I. Introduction

Les composés carbonylés *α,β*-insaturés ont suscité beaucoup d'intérêt, en raison de leur structure relativement simple, ainsi que leurs activités biologique et pharmacologique très variées [1–3]. La chimie des composés carbonylés *α,β*-insaturés est devenue un champ de recherche très vaste depuis la découverte des dérivés dotés des propriétés biologiques remarquables [3,4].

Parmi les composés carbonylés *α,β*-insaturés, les 2-arylidène-indolin-3(*2H*)-ones dites aza-aurones sont des composés hétérocycliques analogues des aurones isomères des flavones. Ils comportent une fonction amine secondaire intracyclique qui vient remplacer l'éther de la structure classique des aurones (*figure I.1*). Ces dérivés renferment dans leur structure un système de carbonyle *α,β*-éthylénique avec une double liaison exocyclique, ce qui leur confère une grande réactivité et faisant d'elles, d'excellents précurseurs et des synthons polyvalents dans la conception et la synthèse d'une variété de nouveaux hétérocycles dotés d'un bon profil pharmaceutique [5–9]. Elles sont en particulier largement employées en tant que blocs de construction synthétiques polyvalents des composés spiro-carbocycliques et hétérocycliques [7,8,10].

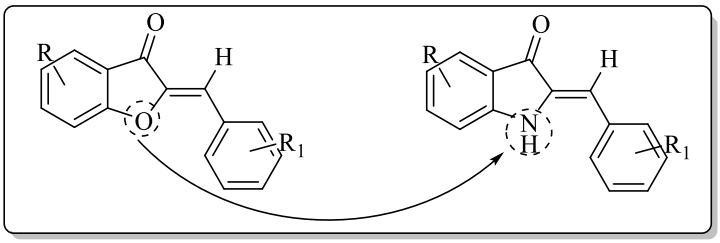


Figure I.1. Structure de l'aza-aurone.

Les aza-aurones, constituent une catégorie importante de composés hétérocycliques qui présentent des excellentes propriétés biologique et pharmacologique [11–15]. Ils constituent aussi la structure de base de certaines molécules intéressantes isolées à partir des sources naturelles [16,17]. Ceci est la raison pour laquelle la recherche des processus synthétiques permettant l'accès à ces dérivés et l'étude de leurs propriétés biologiques sont toujours l'objectif de plusieurs chercheurs [5,11,13,14,18,19]. Dans ce premier chapitre nous décrivons certaines activités biologiques des dérivés de l'aza-aurone, suivi d'un aperçu bibliographique sur les différents procédés de leurs synthèse et réactivité. A la fin du chapitre nous donnons la méthode adoptée pour la synthèse des aza-aurones ainsi que leur caractérisation par les techniques spectroscopiques usuelles. Une conclusion et une partie expérimentale clôtureront ce chapitre.

II. Intérêt biologique des dérivés de l'aza-aurone

Les aza-aurones comptent parmi les molécules hétérocycliques, ayant suscité un intérêt considérable du fait de leurs importantes activités biologiques [11,12,14,15,20]. Cependant, d'après l'analyse des données de la littérature seules quelques investigations limitées, à notre connaissance, qui montrent l'intérêt pharmacologique de ces composés ont été rapportées jusqu'à présent.

II.1. Activité antituberculeuse

La tuberculose est l'une des plus anciennes infections de l'homme induites par une souche de *Mycobacterium tuberculosis,* traitée généralement par une combinaison de médicaments. Au fil du temps d'autres formes [MDR-TB] et [XDR-TB] plus résistantes sont apparues et par conséquent de nouveaux agents anti-mycobactériens puissants sont sollicités pour palier à cette résistance.

Dans le but de développer de nouveaux agents antituberculeux, Campanico et *al*. [21] ont réalisé un criblage *in-vitro* d'une chimiothèque contenant des aurones (A), aza-aurones (B) et leurs précurseurs N-acétylés (C) contre la souche *M. tuberculosis* (*figure I.2*). Les résultats ont montré que les aurones sont inactives contre la souche *M. tuberculosis* à la concentration maximale testée 20 μM, tandis que les aza-aurones et leurs homologues *N*-acétylés ont présenté une puissante activité contre la souche *M. tuberculosis.* Certains dérivés de l'aza-aurone ont montré une capacité inhibitrice de la croissance de plus de 99 % de la souche *M. tuberculosis in-vitro* à des valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI_{99}**)** inférieures à 4 μM *(figure I.2*). De plus, quelques dérivés de l'aza-aurone ont donné une activité contre des isolats cliniques de *M. tuberculosis* multirésistantes (MDR-TB) et ultrarésistantes (XDR-TB) aux médicaments à des valeurs de CMI inferieurs à 10 μM. En outre, les études de stabilité métabolique microsomiale réalisées sur quelques dérivés ont montré que les *N*-acétylaza-aurones sont rapidement désacétylées et transformées en leurs homologues aza-aurones.

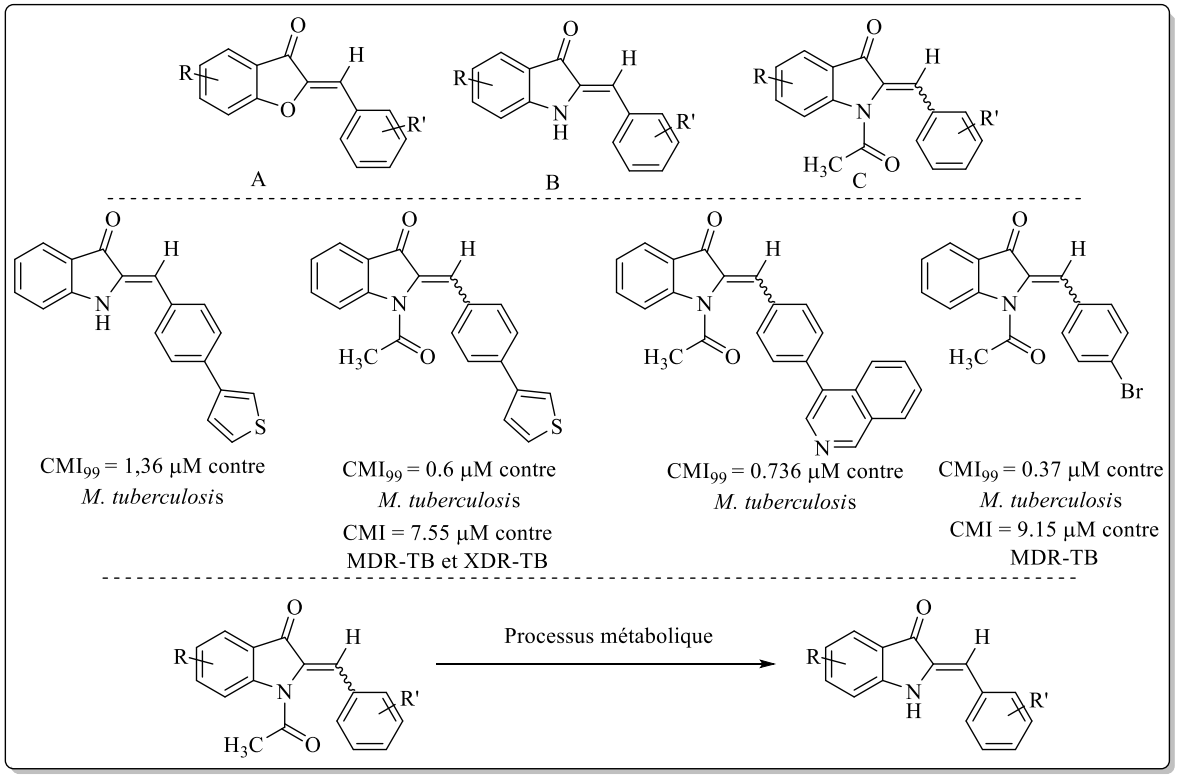


Figure I.2. Structures et activité anti-mycbactérienne des dérivés de l'aza-aurone contre *M. Tuberculosis.*

II.2. Activité antimicrobienne

En 2011, Gein et *al*. ont exploré les 2-aroylmethylène-6-hydroxy-2,3-dihydroindol-3-ones pour leur potentiel antimicrobien [22]. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des aza-aurones a été réalisée contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les résultats ont montré que la plupart d'entre elles présentent une bonne activité inhibitrice contre les souches testées. Les aza-aurones substituées par le Chlore et le Fluore se sont avérées les plus actives (*figure I.3*).

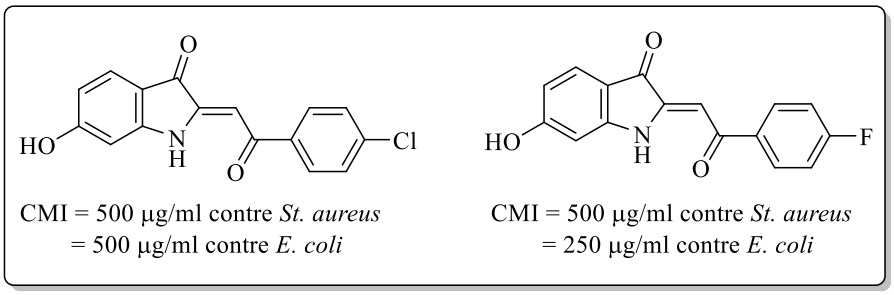


Figure I.3. Structures et activité antimicrobienne des dérivés de l'aza-aurone.

II.3. Activité anticancéreuse

Le cancer sous ses différentes formes représente actuellement l'une des menaces les plus graves pour la santé humaine. Bien que de nombreux agents anticancéreux soient disponibles, de nombreuses tumeurs restent difficiles à guérir, ce qui entraîne des taux de mortalité élevés.

Le problème de toxicité, le développement rapide de la résistance et l'efficacité limitée des agents anticancéreux disponibles soulignent l'urgence de nouveaux composés capables de surmonter les limites des médicaments existants.

En 2020, Tóth et *al*. [23] ont rapporté l'évaluation de l'activité anticancéreuse d'une chimiothèque de 140 composés de dérivés d'aurones, aza-aurones, flavones, chalcones et d'autres analogues vis-à-vis deux lignées cellulaires du sarcome utérin humain, une sensible aux médicaments (MES-SA) et l'autre multi-résistante aux médicaments (MES-SA/Dx5). Les résultats du criblage effectué ont révélé que parmi les analogues structuraux des aurones, certains dérivés de l'aza-aurone ont montré une cytotoxicité plus élevée contre les cellules résistantes et les lignées cellulaires sensibles (*figure I.4*). L'analyse de la relation structure-activité indique que la substitution de l'oxygène intracyclique dans les aurones par un atome d'azote contribue à la toxicité sélective contre les lignées cellulaires. De plus, la présence des groupements alkyles sur le cycle aromatique améliore significativement les valeurs de l'IC_{50}, mettant en évidence l'impact de l'effet hydrophobe et/ou la taille de la chaîne alkyle sur l'efficacité anticancéreuse contre les deux lignées (*figure I.4*).

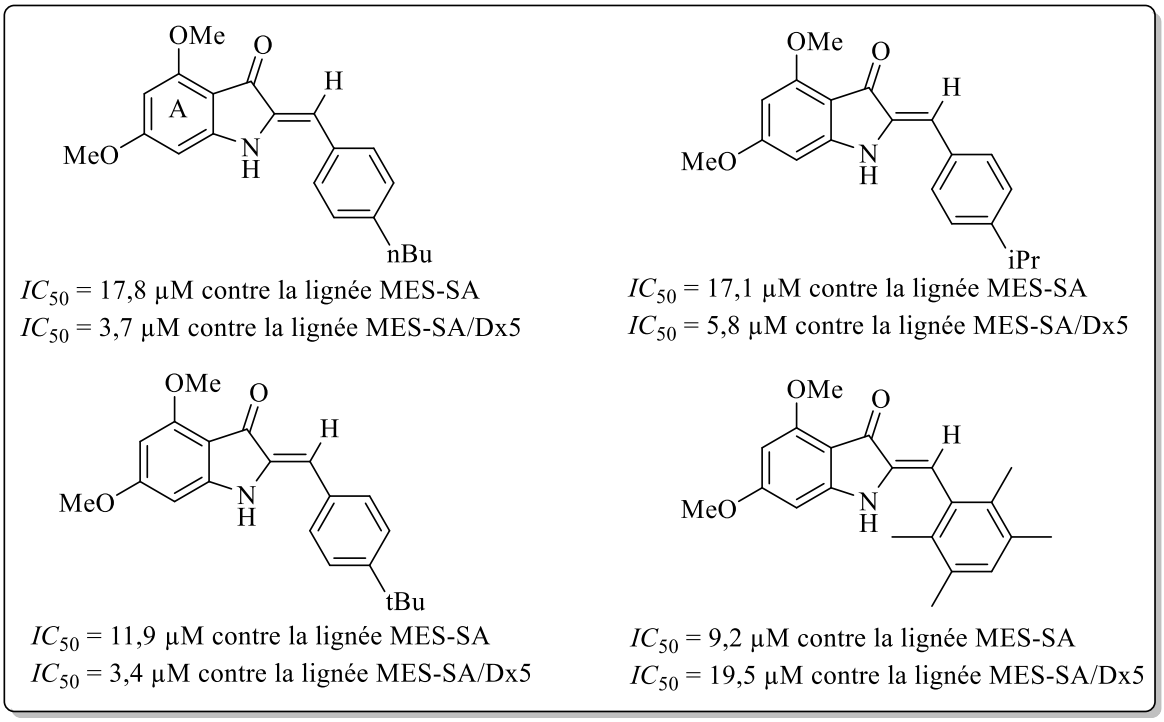


Figure I.4. Structures et activité anticancéreuse des dérivés de l'aza-aurone.

Dans le même cadre, Gerby et *al*. [11] ont testé une série des 2-arylidène-indolin-3(*2H*)-ones pour leur activité antiproliférative en tant que candidats potentiels pour le traitement des tumeurs de la vessie. Les résultats du test ont révélé que le composé (Z)-2-(2-

fluorobenzylidène)-4,6-diméthoxy-indolin-3(*2H*)-one montre une meilleure capacité inhibitrice et prolifération des cellules tumorales de la vessie (*figure I.5*).

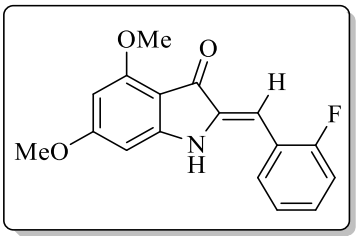


Figure I.5. Fluorobenzylidène indole-3-one

Une autre série des dérivés de l'aza-aurone a été évaluée pour son activité antitumorale contre la lignée cellulaire de carcinome du foie humain (HepG-2) et la lignée cellulaire de carcinome du col de l'utérus humain (Hela) et la lignée cellulaire hépatique humaine normale (WRL-68) [13]. Les résultats des tests biologiques préliminaires ont révélé que certains dérivés de l'aza-aurone inhibent sélectivement les lignées cellulaires cancéreuses l'HepG-2 et l'Hela avec des valeurs de l'IC_{50} comprise entre 5,6 et 8,8 µg/mL, sans endommager la cellule normale. En outre, la relation structure-activité a révélé que les substituants donneurs d'électrons au niveau du cycle B jouent un rôle important dans l'amélioration de l'activité antitumorale contre les cellules cibles (*figure I.6*).

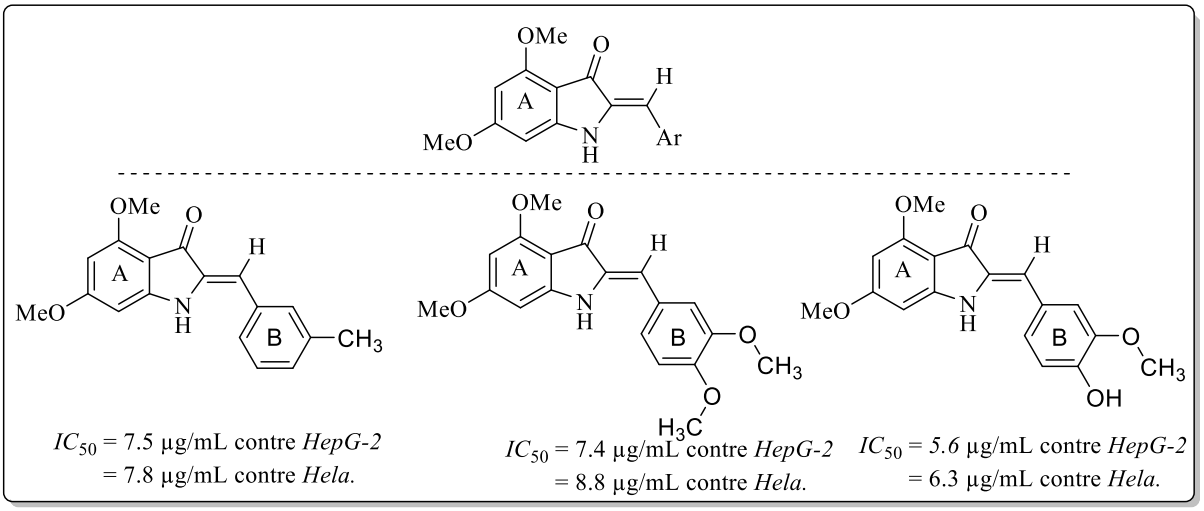


Figure I.6. Structures et activité antitumorale de certaines aza-aurones contre les lignées cellulaires cancéreuses HepG-2 et Hela.

Dans une autre étude, Jia et *al*. [12] ont évalué les aza-aurones non substituées au niveau du cycle A pour leurs propriétés antitumorales contre les lignées cellulaires cancéreuses HT-29 (adénocarcinome colorectal humain), K562 (leucémie myéloïde humaine) et HepG2 (cancer du foie humain). Parmi les dérivés testés, les composés 2-(2-nitrobenzylidène)indolin-3-one

(**a**) 2-(4-(trifluorométhyl)benzylidène)indolin-3-one (**b**) ont montré une bonne activité antitumorale (*figure I.7*).

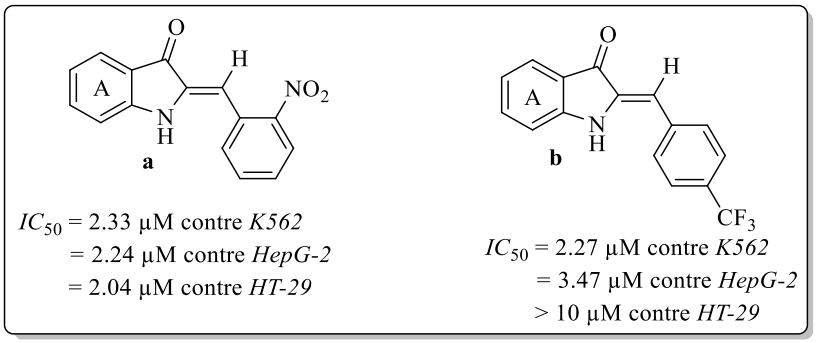


Figure I.7. Structures et activités des dérivés de l'aza-aurone.

II.4. Activité Antipaludique

Le paludisme est une maladie infectieuse tropicale causée principalement par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium falciparum.* Il constitue une menace sérieuse pour la santé humaine malgré la disponibilité de certains médicaments antipaludiques. Dans l'objectif de pallier au phénomène de la résistance du parasite aux médicaments observé au fil du temps, ainsi que les effets secondaires enregistrés lors du traitement, plusieurs chercheurs se sont impliqués dans la découverte de nouvelle génération d'antipaludéens. Dans ce cadre, Souard et *al*. [15] ont testé l'activité antipaludique des dérivés de l'aurone et l'aza-aurone. Les résultats ont montré que la substitution de l'atome d'oxygène intracyclique dans les aurones par le groupe N-H, a globalement conduit à des analogues azotés plus actifs. Presque la plupart des dérivés de l'aza-aurone ont inhibé de façon significative la croissance de la souche résistante à la chloroquine de *Plasmodium falciparum* cultivée sur des érythrocytes humains. Certaines aza-aurones ont présenté une valeur de l'IC_{50} inférieure à 5 µM (*figure I.8*). L'analyse de la relation structure-activité a révélé que la présence des groupements hydrophobes au niveau du cycle B est très favorable et conduit à une augmentation substantielle de l'activité. En particulier, la 4,6-diméthoxy-4′-éthylaza-aurone a montré une activité antipaludique puissante avec une valeur de l'IC_{50} de 1 µM sans toxicité notable.

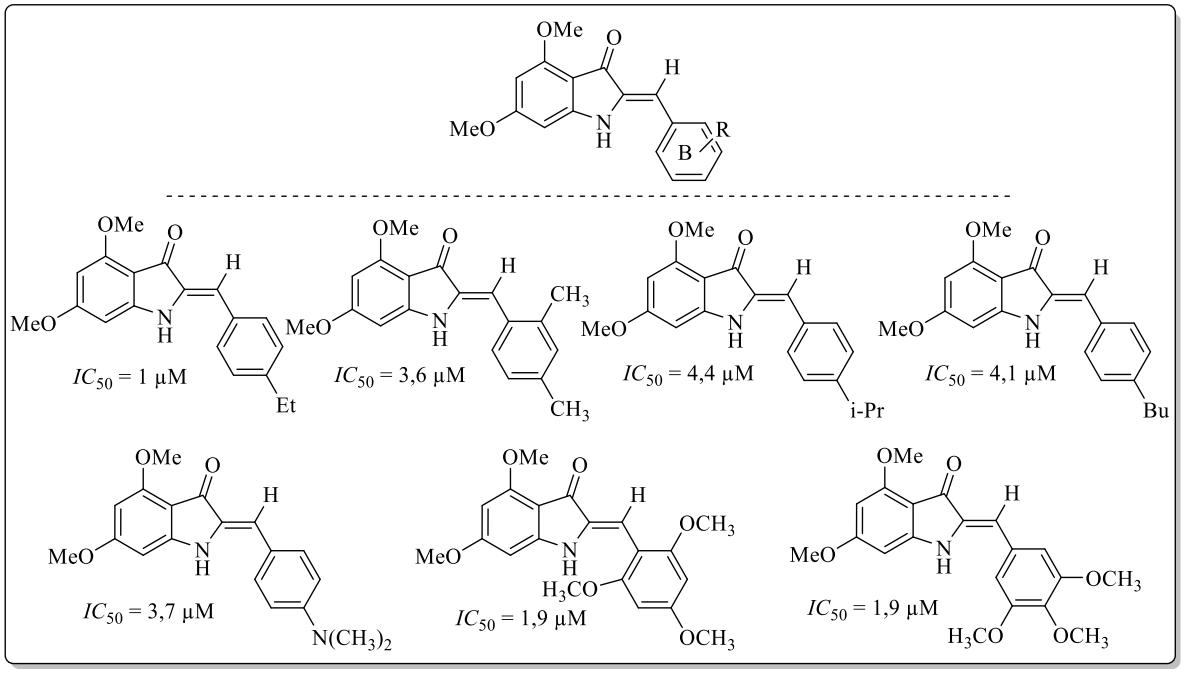


Figure I.8. Structures et activité antipaludique (IC_{50}) de certaines aza-aurones contre la souche de *P. falciparum* résistante à la chloroquine.

Dans une autre étude, Carrasco et *al*. [14] ont évalué les dérivés de l'aza-aurone et *N*-acétylaza-aurone pour leur activité antipaludique contre les stades érythrocytaire (stade sanguin) et hépatique des parasites du paludisme. En général, les aza-aurones se sont révélées très puissantes et sélectives contre le stade sanguin d'une souche de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine à des valeurs de EC_{50} micromolaires faibles, tandis que leurs homologues *N*-acétylés se sont avérés moins actifs. Ce résultat suggère que le groupe NH de l'aza-aurone est essentiel pour atteindre de bons niveaux de l'activité antiplasmodiale. De même, certains aza-aurones ont montré une bonne capacité inhibitrice de développement des parasites au stade hépatique de *Plasmodium berghei* (*figure I.9*).

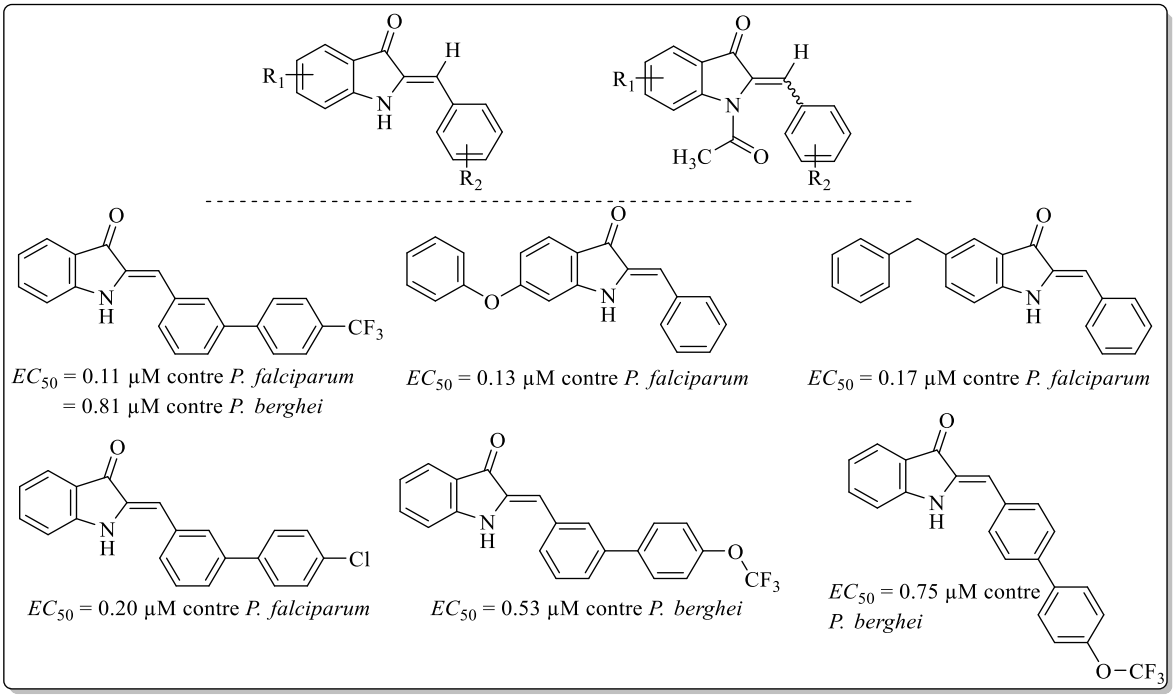


Figure I.9. Structures et activité antiplasmodiale (EC_{50}) des aza-aurones

III. Méthodes de synthèse des dérivés de l'aza-aurone

Comme nous l'avons cité précédemment, les composés contenant le squelette aza-aurone présentent une variété d'activités biologiques. Par conséquent, la synthèse de ces dérivés demeure toujours sollicitée. Des efforts considérables ont été déployés par les chercheurs chimistes pour développer des méthodes de synthèse du squelette aza-aurone différemment substitué. Nous présenterons ci-après quelques voies de synthèse décrites dans la littérature.

III.1. Synthèse multi-étape

III.1.1. A partir de l'aniline

En 2003, Lawson et *al*. [24] ont rapporté la synthèse des dérivés de l'aza-aurone à partir de la 3,5-diméthoxyaniline selon la procédure décrite dans le *schéma I.1*. Dans la première étape, la 3,5-diméthoxyaniline **a** réagit avec le chloroacétonitrile en présence du chlorure d'aluminium et de trichlorure de bore suivi d'une hydrolyse acide, pour donner l'intermédiaire 2-amino-□-chloroacétophénones **b** (réaction de Houben–Hoesch). Le produit **b** obtenu est cyclisé en milieu basique puis acétylé pour conduire à la formation du composé l-acétyI-4,6-diméthoxy-2,3-dihydroindol-3-one **c**. La condensation de Knoevenagel entre le produit **c** formé et les aldéhydes aromatiques dans un milieu hydro-alcoolique en présence de l'hydroxyde de potassium a permis l'obtention des aza-aurones **d**.

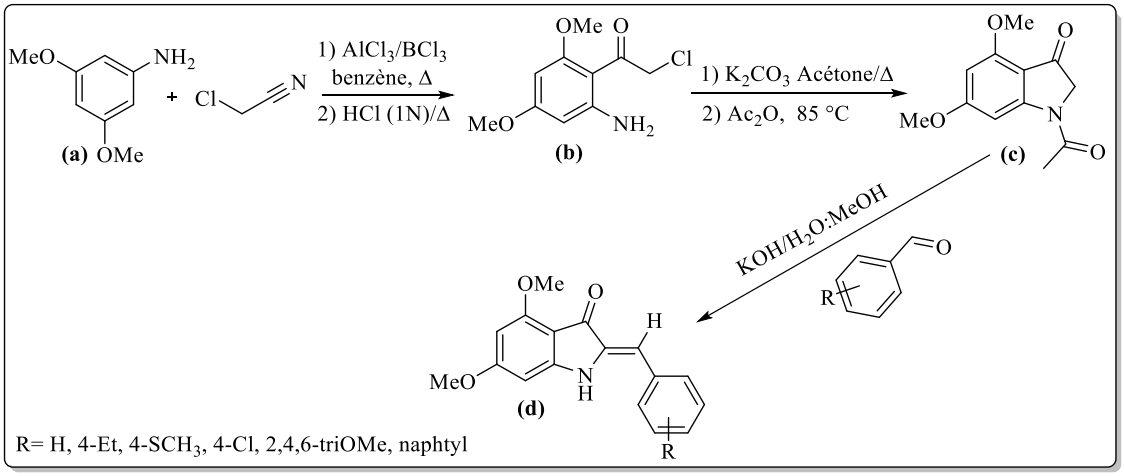


Schéma I.1. Voie de synthèse des dérivés de l'aza-aurone

Cette méthode a été souvent reprise [11,25] récemment pour synthétiser les dérivés de l'aza-aurone différemment substituées [13,14,21,23].

III.1.2. A partir de l'ortho-nitroacétophénone

Aksenov et *al*. [26] ont mis au point une nouvelle approche de synthèse simple et efficace permettant la synthèse des aza-aurones à partir des dérivés de l'*ortho*-nitroacétophénone. Cette méthode consiste à préparer dans un premier temps les chacones par la réaction de condensation aldolique de l'*o*-nitroacétophénone avec les aldéhydes aromatiques. Les chacones préparées sont traitées par le cyanure de potassium (KCN) dans un milieu hydroalcoolique puis acidifiées avec l'acide acétique. Les auteurs ont remarqué que la réaction conduit d'une manière inattendue à la formation des dérivés de la 2-cyano-2-arylidèneindolin-3-one (*schéma I.2*).

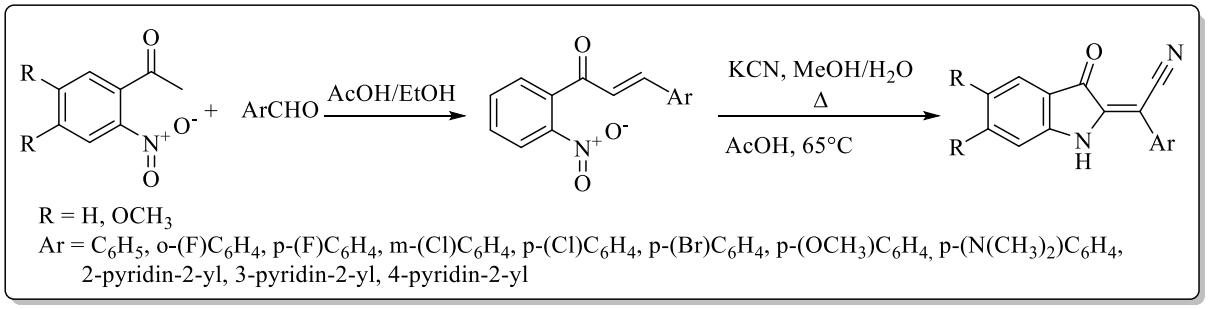


Schéma I.2. Préparation des dérivés de la 2-arylidène indolin-3-one

III.2. Synthèse one-pot

Les aza-aurones peuvent être synthétisées d'une manière sélective selon une méthode efficace et pratique basée sur un couplage de Sonogashira carbonylant pallado-catalysé entre des iodoanilines et des dérivés acétyléniques sous pression du monoxyde de carbone, suivie par

une cyclisation intramoléculaire [27]. La réaction aboutit à la formation des dérivés de l'aza-aurones souhaitées avec des bons rendements (*schéma I.3*).

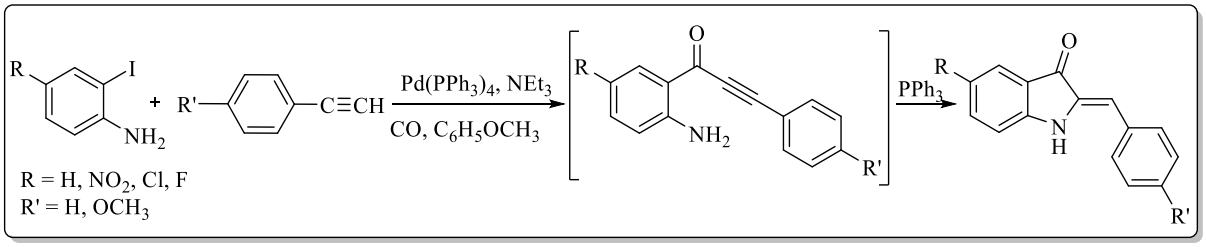


Schéma I.3. Élaboration des aza-aurones par couplage de Sonogashira carbonylant suivi d'une cyclisation par action de la triphénylphosphine

Une approche de synthèse similaire a été développée par Li et *al.* en 2017 [28]. Dans cette stratégie, les 2-benzylidèneindolin-3-ones ont été préparées par le couplage des 2-iodoanilines substituées avec des acétyléniques aromatiques en utilisant l'acide formique comme source de monoxyde de carbone et l'anhydride acétique comme agent d'activation (*schéma I.4*). Ce protocole donne un accès simple à une grande variété de dérivés de l'aza-aurone avec des bons rendements, une bonne sélectivité et une tolérance exceptionnelle aux différents groupements fonctionnels.

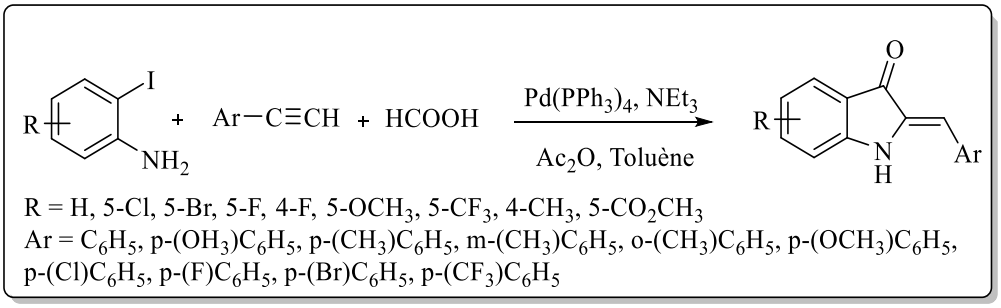


Schéma I.4. Synthèse sélective de benzylidèneindolin-3-ones catalysée par le palladium avec l'acide formique comme source de CO.

III.3. Synthèse en une seule étape

La synthèse des aza-aurones a été également effectuée à partir des dérivés de l'ortho-azidochalcone par transformation thermique comme elle a été rapportée dans la littérature. Cependant, le mécanisme de formation de ces composés n'est pas clairement défini. (*schéma I.5*) [29].

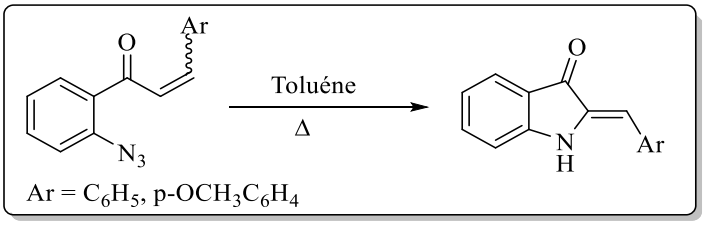


Schéma I.5. Formation d'indoxyle à partir d'azoture

Une autre voie alternative pour la synthèse des 2-(pyridinylméthylène)indolin-3-ones avec de bons rendements a été rapportée [30]. Dans cette méthode, les aza-aurones ont été obtenues par une cyclisation intramoléculaire des dérivés de la 2'-aminochalcone en présence de l'*Amberlyst*®-15 comme catalyseur acide relativement fort (*schéma I.6*).

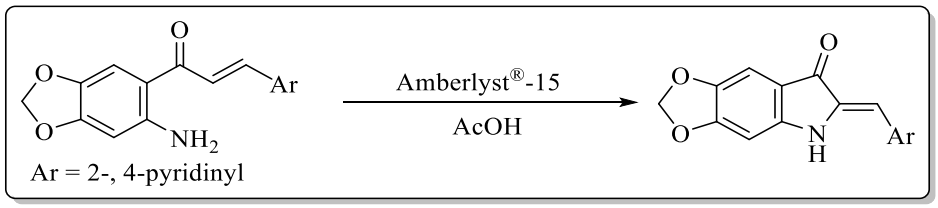


Schéma I.6. Synthèse des 2-(pyridinylméthylène)indolin-3-ones par cyclisation intramoléculaire des 2'-aminochalcones.

Les aza-aurones peuvent également être synthétisées par la condensation *one-pot* de 3-aminophénol avec des α-cétoesters via une substitution aromatique électrophile dans l'acide acétique à chaud [22]. La réaction conduit à la formation de 2-aroylméthylène-6-hydroxy-2,2-dihydroindol-3-ones d'une manière sélective avec des rendements variables (*schéma I.7*).

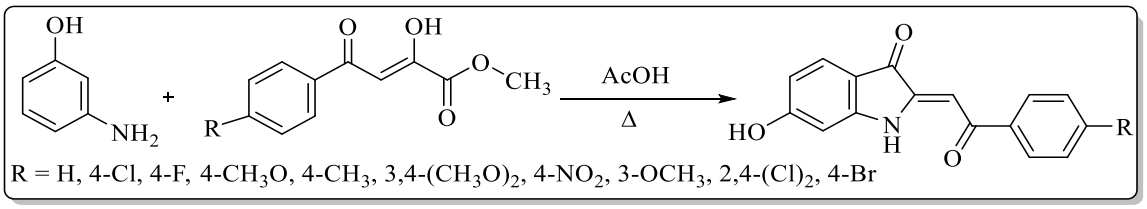


Schéma I.7. Réaction en cascade des aza-aurones

Récemment, Aksenov et *al.* ont développé une approche synthétique plus rationnelle des aza-aurones (*schéma I.8*) [31]. Cette méthode permet de synthétiser en une seule étape des dérivés de la 2-cyano-2-arylidèneindolin-3-one à partir des aldéhydes et des ortho-nitroacétophénones sans génération du produit intermédiaire l'ortho-nitrochalcone [26]. Cette réaction implique une condensation aldolique initiale suivie d'une addition de type Michael d'anion cyanure sur la chalcone intermédiaire, qui subit à son tour une cyclisation intramoléculaire pour donner les produits souhaités.

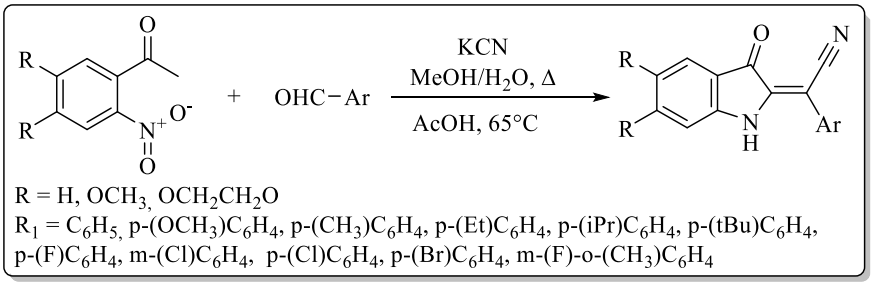


Schéma I.8. Nouvelle approche synthétique de synthèse des azaaurones

IV. Réactivité des aza-aurones

Les aza-aurones comportent dans leur structure une fonction cétone *α,β*-insaturée exocyclique, ce qui leur procure un bon profile en tant que produits de base polyvalent et pratique pour la synthèse d'une grande variété de composés hétérocycliques à squelette polycyclique [32,33]. La partie *α,β*-énone de la molécule est une unité favorable à la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec les différents dipôles ainsi que la réaction de cyclocondensation avec les différents réactifs portant des sites nucléophiles et fournit d'importants systèmes de cycles spiro et poly-hétérocycliques intéressants (*figure I.10*) [7,8,10,32].

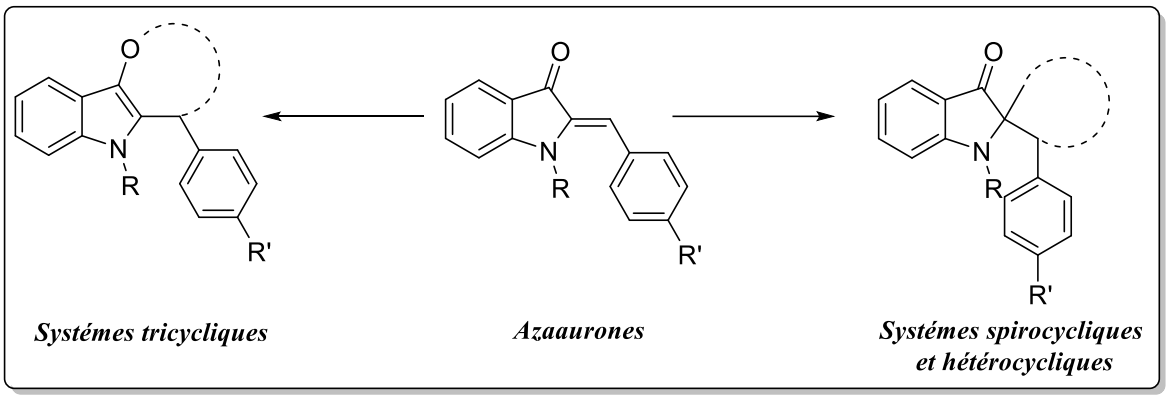


Figure I.10. Importance des aza-aurones dans certains volets de la recherche

Dans ce cadre, nous citons ci-après quelques travaux de recherche focalisés principalement sur l'étude de la réactivité des aza-aurones vis-à-vis de différents réactifs.

IV.1. Synthèse des composés tricycliques à partir des aza-aurones

Velzheva et *al*. ont étudié le comportement des dérivés de l'aza-aurone vis-à-vis des composés à méthylène actif à savoir le malononitrile en présence de la triéthylamine [34]. Cette réaction conduit à la formation des 2-amino-4-aryl-5-acétyl-3-cyano pyrano[3,2-b]indoles après cyclisation intramoléculaire du produit de Michael intermédiaire. Les composés pyraniques ainsi obtenus sont transformés par la suite dans une solution hydroalcoolique de KOH à chaud en 2-alkoxy-4-aryl-3-cyano-δ-carbolines (*schéma I.9*).

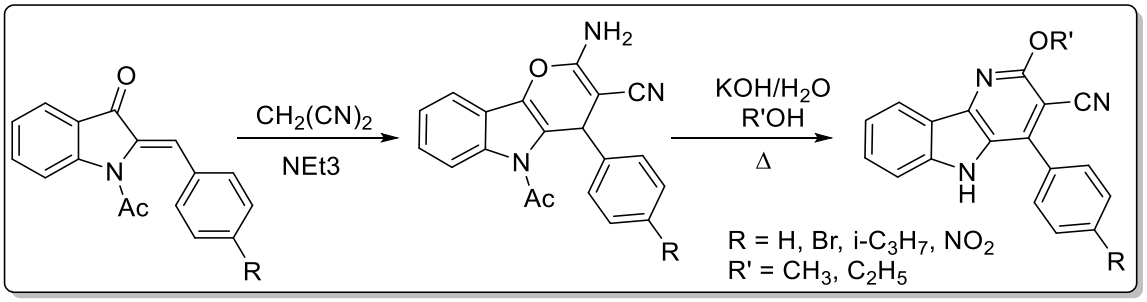


Schéma I.9. Réaction des aza-aurones avec le malononitrile

En 2019, Zhou et *al*. [32] ont montré que la réaction des (Z)-2-arylidéne indolin-3-ones avec le malononitrile en présence de la cinchonine comme catalyseur organique chiral au lieu des catalyseurs basiques conduit à la formation des pyrano[3,2-b]indoles d'une manière hautement stéréosélective (*schéma I.10*). Les composés désirés ont été générés avec d'excellents rendements jusqu'à 94 % et avec une énantiosélectivité remarquable jusqu'à 98 % d'excès énantiomérique. Certains pyrano-indoles obtenus ont montré une activité antibactérienne *in vitro* contre *S. aureus* et *S. epidermidis*.

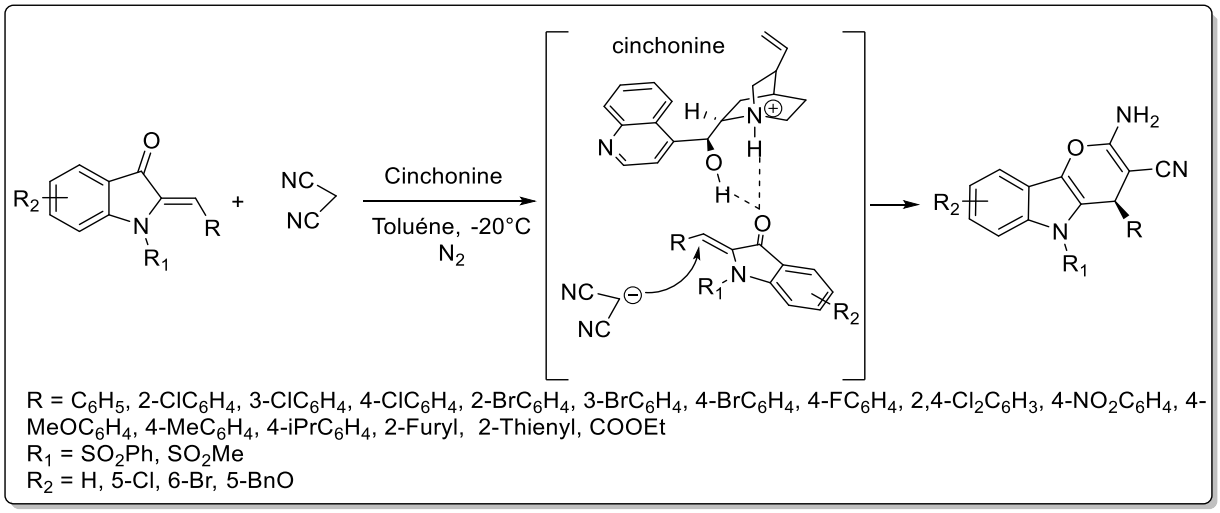


Schéma I.10. Synthèse asymétrique des 4H-Pyrano[3,2-b]indoles

La réaction hétéro Diels-Alder énantio et diastéréosélective est l'une des approches les plus simples et efficaces pour la synthèse des hétérocycles avec de multiples centres stéréogéniques. Dans ce contexte, Yang et al ont engagé les aza-aurones comme diène dans la réaction de Diels-Alder à demande inverse d'électrons [35]. Les auteurs ont montré que la réaction de cycloaddition [4+2] entre les dérivés de la (Z)-2-arylidène indolin-3-one et les aldéhydes comme diénophiles enrichis catalysées par une amine secondaire chiral en présence de l'acide 3-nitrobenzoïque a permis d'obtenir des dérivés d'hydropyrano[3,2-b]indoles chiraux hautement fonctionnalisés avec des rendements modérés à bons et une stéréosélectivité élevée (*schéma I.11*).

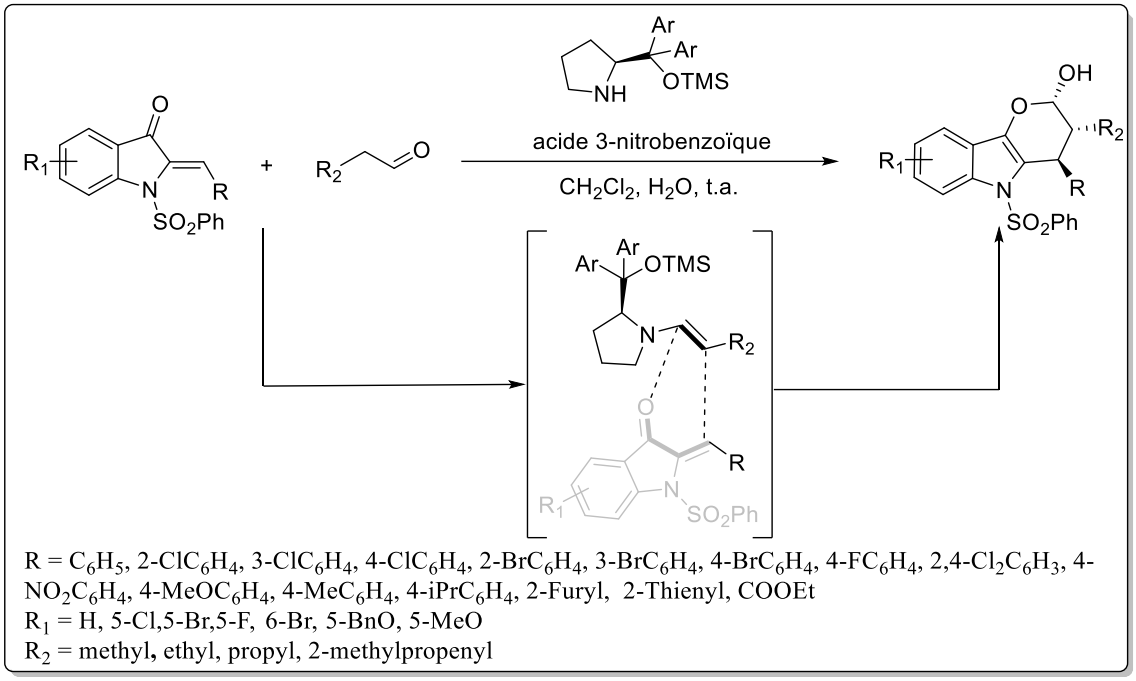


Schéma I.11. Synthèse stéréosélective d'hydropyrano[3,2-b]indoles via une réaction oxa-Diels Alder à demande inverse d'électrons

L'implication des (Z)-2-arylidène indolin-3-ones comme intermédiaires de base dans la synthèse des pyridazinoindoles biologiquement actives a été aussi rapportée par Velezheva et *al*. [36]. Cette synthèse est réalisée par l'action du cyanure de potassium sur les arylidèneindolin-3-ones dans le diméthylsulfoxyde. Le produit de l'addition-1,4 de Michael ainsi obtenu est mis en réaction par la suite avec l'hydrate d'hydrazine dans de l'acide acétique à chaud (*schéma I.12*). La réaction de cyclocondensation aboutit à la formation des pyridazinoindoles avec des rendements compris entre 60 et 90%. Les auteurs ont testé l'activité antimycobactérienne des produits hétérocycliques synthétisés contre la souche *Mycobacterium tuberculosis*. La plupart des pyridazinoindoles ont montré une activité antituberculeuse appréciable.

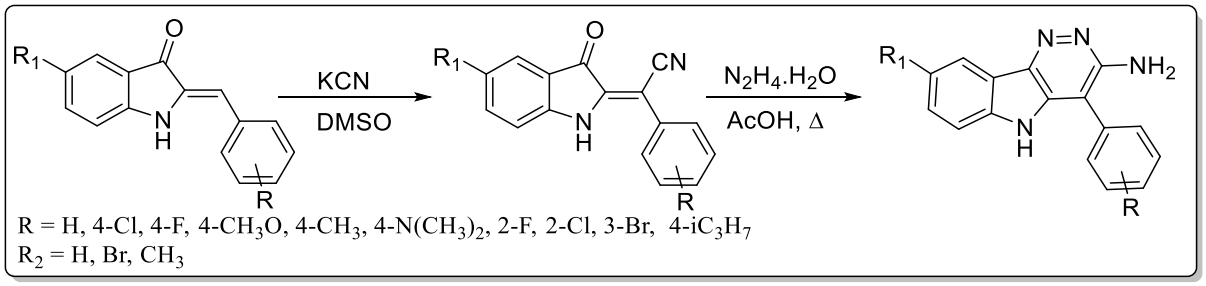


Schéma I.12. Voie de synthèse des pyridazinoindoles à partir des azaaurones

IV.2. Synthèse des composés spirocycliques à partir des aza-aurones

Les réactions de cycloaddition constituent l'une des méthodes les plus efficaces et plus utiles appliquées dans la synthèse des spiro-cycles et des spiro-hétérocycles bioactifs à partir de

petites molécules incorporant des cétones *α,β*-insaturée [37,38]. En particulier, une réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 implique l'interaction d'un dipolarophile avec un dipôle-1,3 approprié de manière concertée conduisant au processus de cyclisation. Pour la suite de notre étude bibliographique, l'utilisation des aza-aurones en tant que dipolarophile pour la synthèse de molécules spiraniques plus complexes est rapportée [10,33].

Lévai et Patonay ont engagé les aza-aurones en tant que dipoloarophile dans la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec le diazométhane [33]. La réaction fournit les dérivés des spirocyclopropanes après dénitrogénation spontanée de la spiropyrazoline intermédiaire formée (*schéma I.13*).

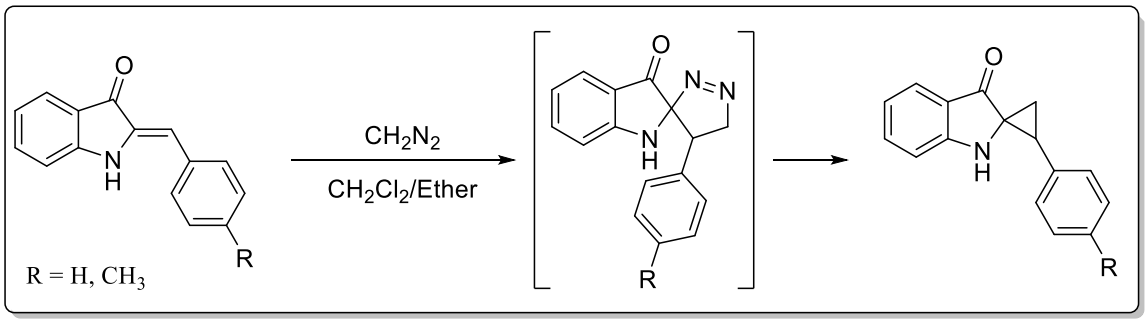


Schéma I.13. Synthèse des spirocyclopropanes

Dans une autre étude, le comportement des aza-aurones vis-à-vis des arylnitriloxydes via la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 a été également étudiée. Boughaleb et al ont mis la (Z)-2-benzylidène indol-3-one en réaction avec le nitrile oxyde généré *in-situ* par l'action de la triéthylamine sur le précurseur chloré du dipôle à chaud [10]. La réaction de cycloaddition conduit d'une manière hautement sélective à la formation d'un seul régioisomère (*schéma I.14*).

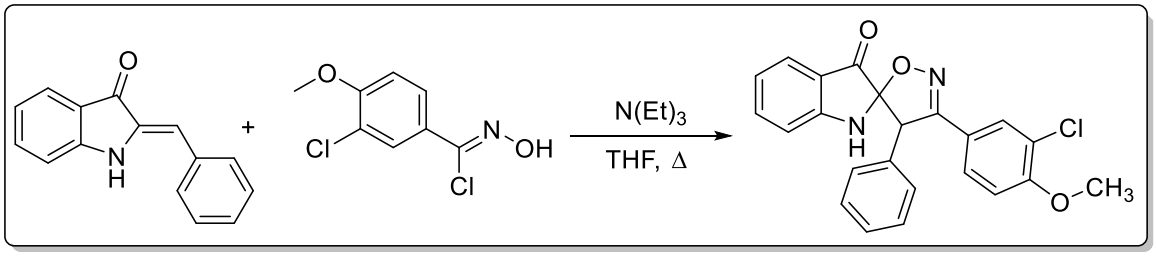


Schéma I.14. Synthèse de spiroisoxazoline indolinone

En 2016, Zhang et *al*. ont utilisé les dérivés de l'aza-aurone comme intermédiaires essentiels pour la synthèse de spiropyrrolidine oxindoles [7]. Les auteurs ont examiné la réactivité des (Z)-1-acétyl-2-arylidèneindoline-3-ones vis-à-vis des aldimines o-hydroxy aromatiques précurseurs d'ylures d'azométhine en présence d'un organocatalyseur chiral. La réaction de

cycloaddition dipolaire-1,3 asymétrique catalytique abouti à la formation des spiropyrrolidine oxindoles avec des rendements élevés et d'excellentes stéréosélectivités (*schéma I.15*).

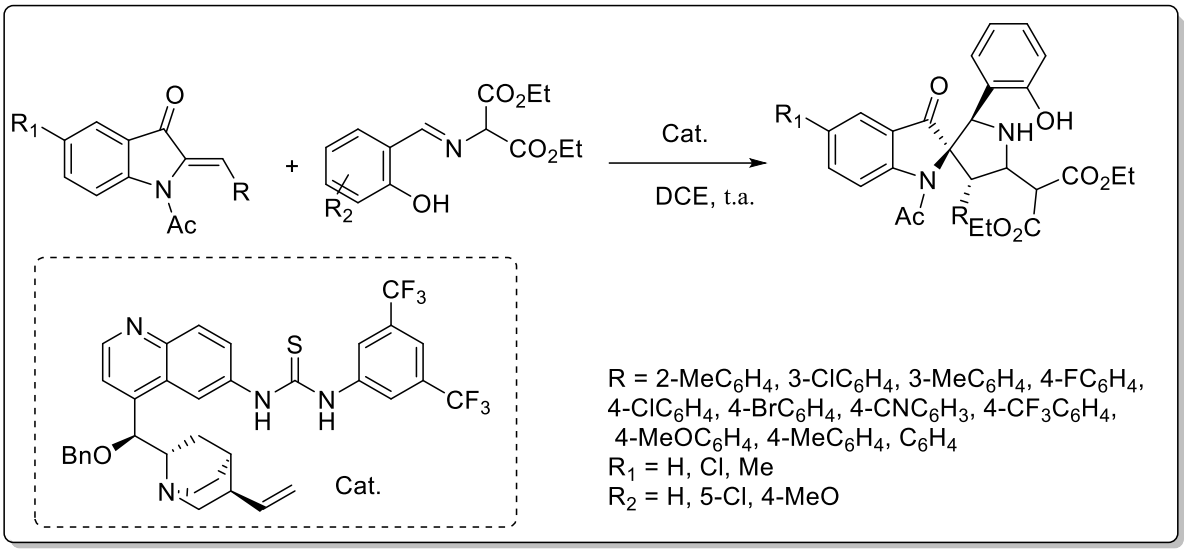


Schéma I.15. Réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 asymétrique organocatalysée par la thiourée à base d'alcaloïde de quinquina

Récemment, les ylures de soufre ont été largement utilisés comme d'excellents synthons pour la construction d'aziridines, d'époxydes ou de cyclopropanes avec des imines, des composés carbonylés ou des oléfines déficientes en électrons, respectivement [39]. Dans ce cadre Tang et *al.* ont soumis les (Z)-2-arylidèneoxindoles à l'action des bromures de sulfonium en présence de carbonate de potassium dans l'acétonitrile [8]. La réaction procède par une addition-1,4 de Michael des ylures de soufre sur le système conjugué des aza-aurones, suivie d'une substitution nucléophile SN_2 intramoléculaire de l'intermédiaire de Michael pour conduire à la formation des dérivés de spirocyclopropane indolinone d'une façon hautement diastéréosélective. Le mécanisme proposé pour l'obtention des spirocyclopropanes est représenté dans le *schéma I.16*.

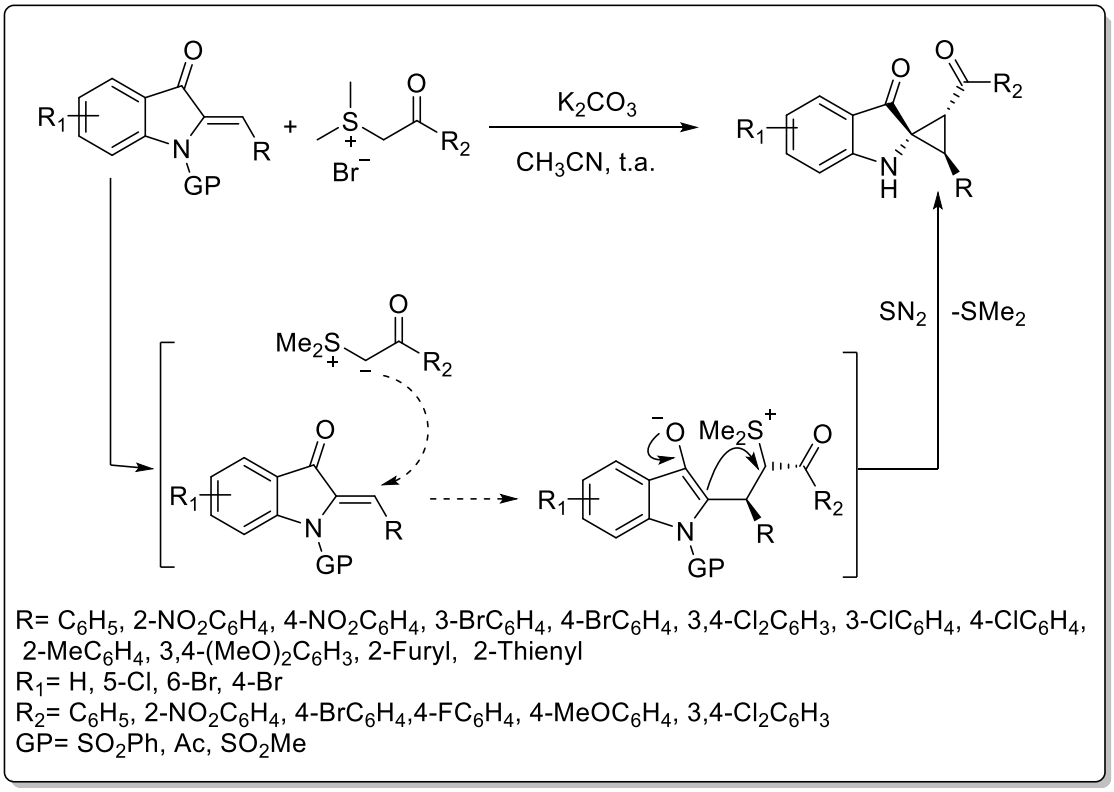


Schéma I.16. Synthèse hautement diastéréosélective de dérivés de spiro-cyclopropane.

En 2014, Guo et *al*. ont rapporté une nouvelle méthodologie pour la construction des spirocyclopentanone oxindoles à partir des dérivés de l'aza-aurone [6]. L'utilisation d'un carbène N-hétérocyclique (NHC) comme catalyseur de la réaction entre les aldéhydes *α,β*-insaturés avec les dérivés de l'aza-aurone permet la formation des produits désirés avec des bons rendements et une grande pureté optique (jusqu'à 95% ee). Les auteurs ont proposé un mécanisme plausible pour la formation du spiro-hétérocycle. Tout d'abord, le sel de triazolium chiral utilisé comme précatalyseur est déprotoné par l'action de DBU pour produire un catalyseur organique NHC, qui s'additionne ensuite sur des dérivés cinnamaldéhydes pour générer les homoénolates. Ces derniers agissent par une addition-1,4 de Michael sur les aza-aurones, suivie d'une tautomérisation pour produire un groupe acyle. Puis, la cyclisation stéréosélective de l'intermédiaire obtenu donne les produits finaux et régénère l'organocatalyseur NHC (*schéma I.17*).

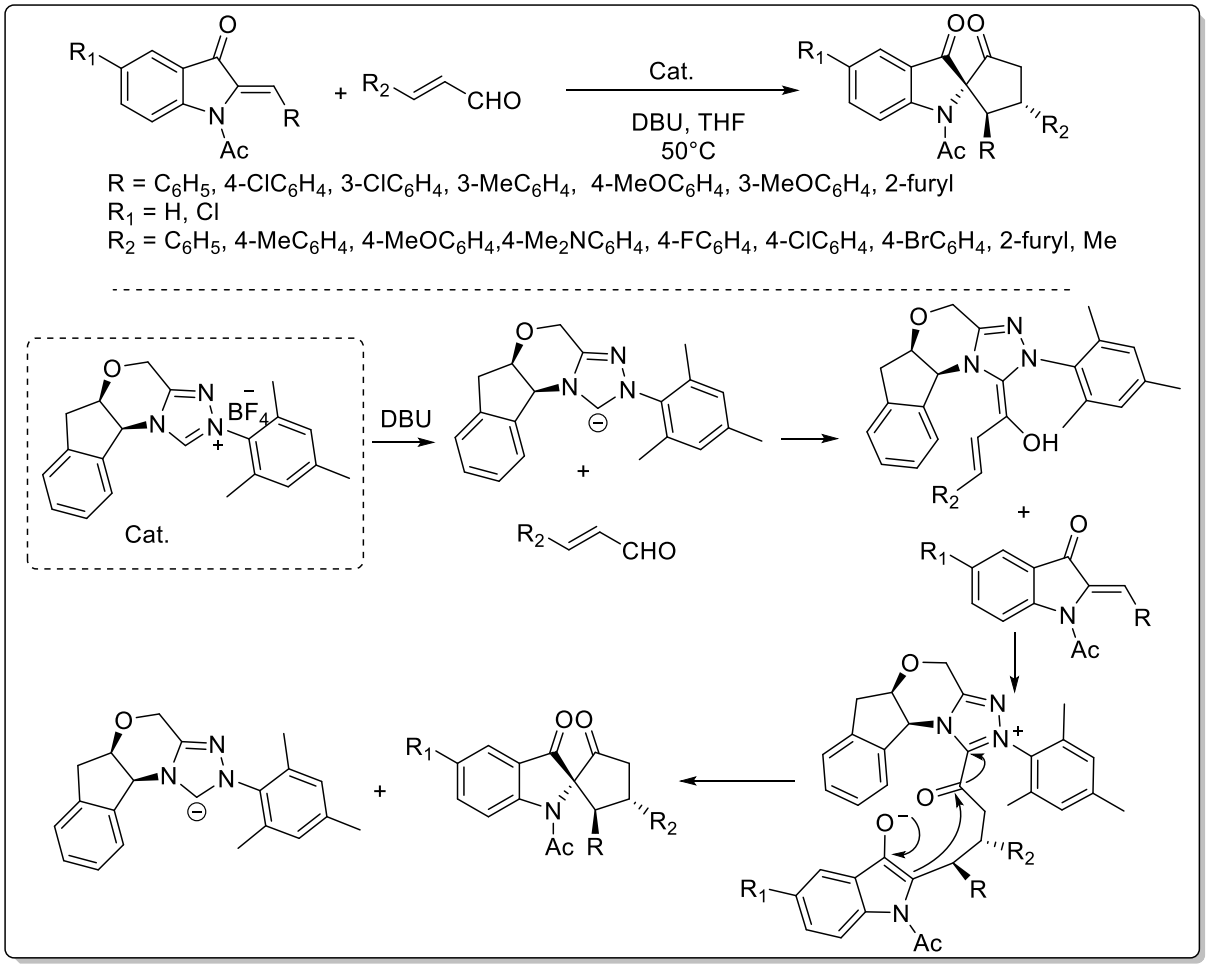


Schéma I.17. Synthèse stéréosélective des spiro-cyclopentanone oxindoles catalysée par un carbène N-hétérocyclique

Comme nous l'avons décrit, les aza-aurones possèdent des propriétés biologiques et thérapeutiques importantes. De plus, elles sont largement utilisées comme intermédiaires clés dans la synthèse de divers hétérocycles tels que les pyranes, pyrolindines, isoxazolines, cyclopropanones, pyridazines, cyclopentanone, etc. Tenant compte des données susmentionnées, nous avons décidé de synthétiser les dérivés de l'aza-aurone toute en se basant sur les méthodes rapportées et en utilisant les réactifs disponibles dans le laboratoire dans le but d'étudier leur réactivité par la suite.

V. Synthèse des dérivés de l'aza-aurone au laboratoire

Pour notre part, nous avons adopté la méthode décrite dans le *schéma I.18* pour la synthèse des dérivés de l'aza-aurone. Initialement, Nous avons synthétisé l'acide orthophenylglycine en portant à reflux pendant quatre heures l'acide anthranilique et l'acide monochloroacétique en quantités équimolaires dans une solution aqueuse de carbonate de sodium. Ensuite, le diacide obtenu est cyclisé dans l'anhydride acétique en présence de triéthylamine. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une heure et conduit à la formation du diacétylindoxyle

selon une cyclisation de Rössing avec un rendement modéré [40]. Enfin, le diacétylindoxyle obtenu est condensé sur les aldéhydes aromatiques en présence de la soude. Cette dernière étape est réalisée après le passage d'un courant d'azote pour chasser l'oxygène de l'aire du milieu réactionnel [40–42].

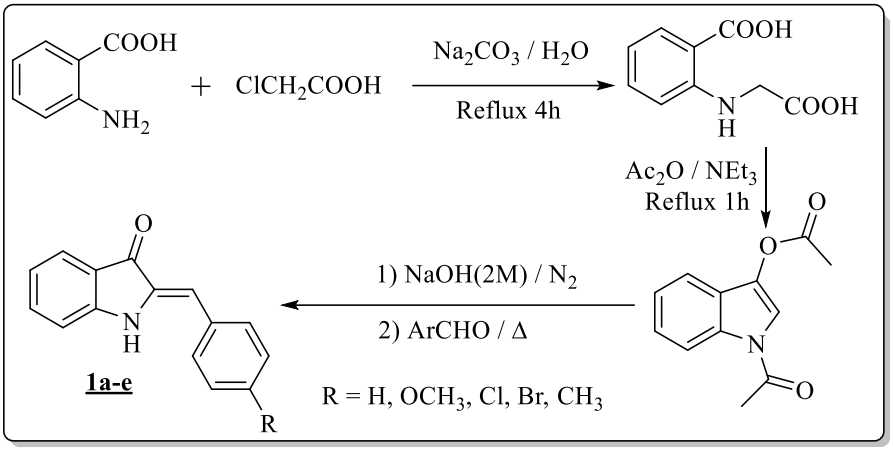


Schéma I.18. Méthode adoptée pour la synthèse des dérivés de l'aza-aurone

La structure de l'aza-aurone obtenue a été établie par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN 1D et 2D).

a) Spectre IR du composé 1a

Le spectre infrarouge du composé **1a** présente en particulier une bande d'absorption intense vers 1690 cm^{-1} attribuée à la vibration de la liaison C=O de la fonction cétone. On relève aussi une bande d'absorption vers 3354 cm^{-1} caractéristique à la vibration de la liaison N-H (*figure I. 11*).

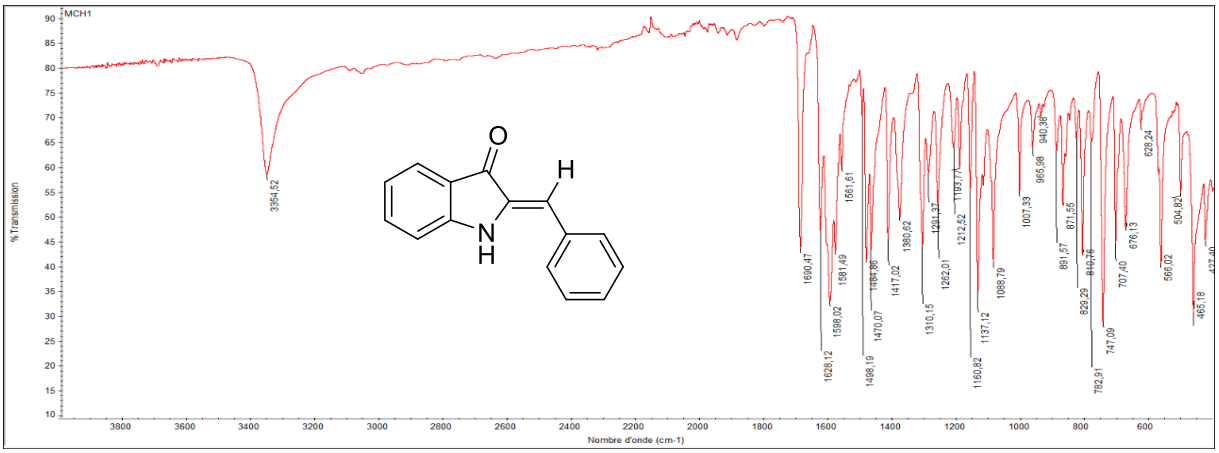


Figure I.11. Spectre IR du composé **1a**

b) Etude spectrale RMN ^{1}H du composé 1a

Le spectre RMN du proton de la (Z)-2-benzylideneindolin-3-one **1a** préparé présente en particulier en plus des signaux attribuables aux protons aromatiques qui résonnent entre 6,96

ppm et 7,78 ppm. Un signal singulet situé à 6,89 ppm relatif au proton éthylénique H$_{\beta}$. Le déplacement chimique obtenu pour le proton H$_{\beta}$ montre que l'aza-aurone obtenue adopte la géométrie Z, cette constatation est appuyée par les données motionnées de la littérature [13–15]. Pour l'isomère E ont doit s'attendre à des valeurs beaucoup plus faibles pour le déplacement chimique du proton H$_{\beta}$ [14,43]. Le proton de l'amine secondaire du noyau indolinone résonne à 6,95 ppm. Nous donnons dans la *figure I.12* le spectre RMN ^{1}H du composé **1a.**

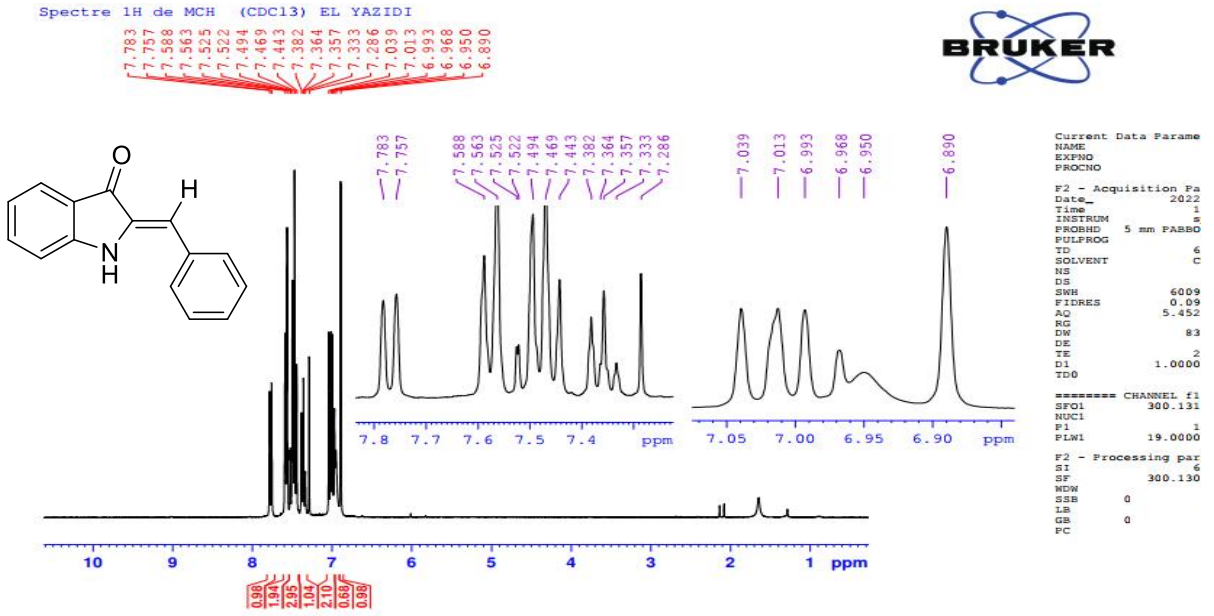


Figure I.12. Spectre RMN-^{1}H du composé **1a** enregistré dans $CDCl_3$.

c) Etude spectrale RMN ^{13}C de l'aza-aurone 1a

L'analyse du spectre RMN ^{13}C du composé **1a** montre en particulier la présence des signaux caractéristiques suivants : Un signal situé à 186,5 ppm caractéristique du carbone de la fonction carbonyle (C=O) qui confirme la géométrie Z [13,14]. Tandis que dans le cas de l'isomère E, le signal du groupement carbonyle doit apparaitre vers 183 ppm [43]. Un autre signal à 111 ppm attribuable au carbone éthylénique (C$_{\beta}$), ceci confirme d'avantage la stéréochimie Z de la double liaison carbone-carbone [13,14,44]. Les carbones aromatiques résonnent dans l'intervalle 111 ppm et 153 ppm (*figure I.13*).

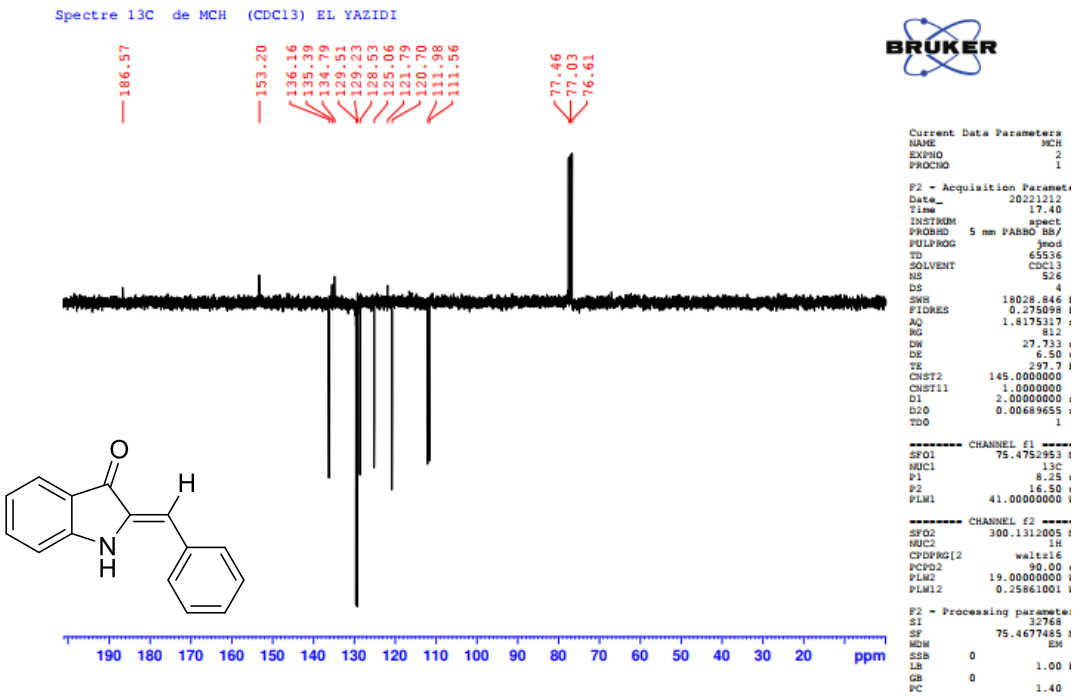


Figure I.13. Spectre RMN ^{13}C du composé **1a** enregistré dans $CDCl_3$.

L'attribution du signal du carbone C_β a été effectuée à l'aide des spectres RMN-2D hétéronucléaire (^1H-^{13}C) des aza-aurones obtenues. Sur le spectre du composé **1a** (*figure I.14*), on remarque que le signal du proton H_β à 6,89 ppm est corrélé avec le signal à 111 ppm assigné au carbone C_β, ce qui confirme les constations précédentes.

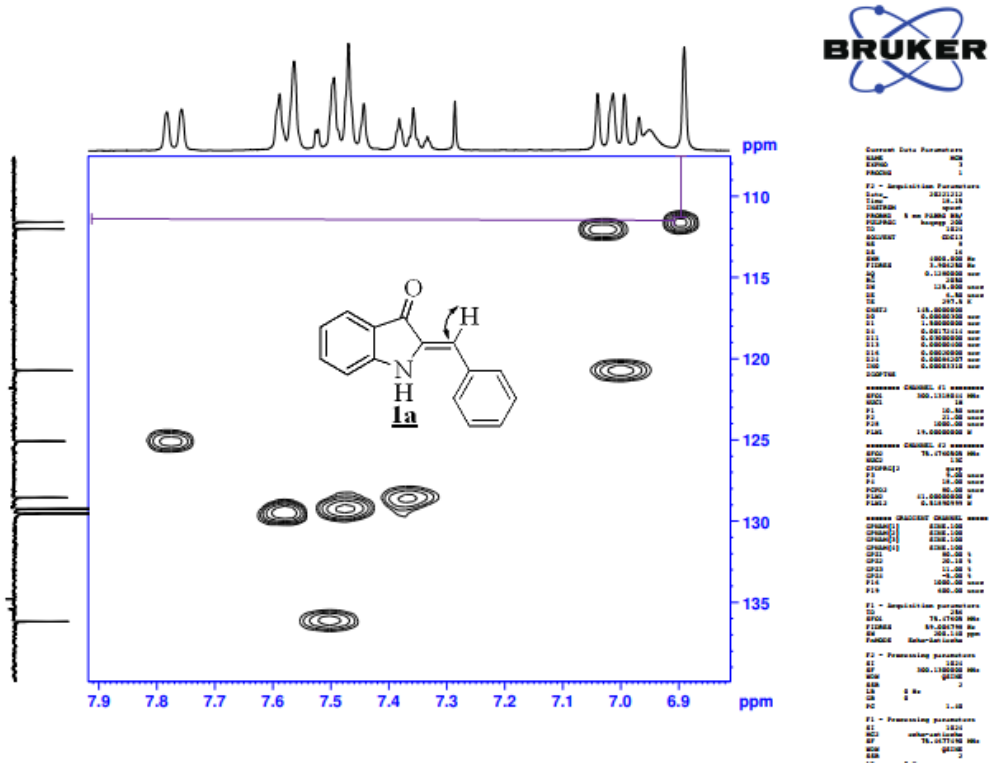


Figure I.14. Spectre RMN-2D hétèronucléaire HSQC du composé **1a**

L'étude des données spectrales obtenues à travers le dépouillement des différents spectres RMN (^{1}H et ^{13}C), nous a permis de constater que les différentes aza-aurones adoptent la configuration **Z**. Les résultats obtenus sont en bon accord avec les données de la littérature [12,14,15,24,44].

Les propriétés physiques et données spectrales issues du dépouillement des spectres RMN des aza-aurones préparées sont regroupées dans le tableau ci-après.

Tableau I.1. Propriétés physiques et données spectrales des aza-aurones synthétisées (**1a-e**).

Pdts	R	P.f. (°C)	Rdt (%)	RMN-^{1}H (δ en ppm)			RMN-^{13}C (δ en ppm)		
				δ(R)	δ(NH)	δ(H_β)	δ (R)	δ (C_β)	δ (CO)
1a	H	176-178	90	-	6,95 ($CDCl_3$)[a]	6,89	-	111,5	186,5
1b	OCH_3	178-180	93	3,86	6,89 ($CDCl_3$)	6,87	55,4	112,1	186,7
1c	Cl	258-260	85	-	9,86 (DMSO-*d6*)	6,93	-	108,6	186,8
1d	Br	242–244	91	-	9,84 (DMSO-*d6*)	6,60	-	108,3	186,3
1e	CH_3	212	80	2,34	6,90 ($CDCl_3$)	6,86	22,4	113,1	186,5

[a] Solvant dans lequel enregistré le spectre RMN

VI. Conclusion

Dans ce premier chapitre, nous avons abordé une mise au point bibliographique sur l'intérêt biologique des aza-aurones et leurs dérivés, comme nous avons aussi présenté certaines stratégies de leur synthèse et des différents travaux consacrés à l'étude de leurs réactivés. Cette étude bibliographique nous a permis de choisir la stratégie adéquate pour la synthèse des dérivés de l'aza-aurone. Notre stratégie de synthèse est une séquence réactionnelle constituée de trois étapes : une substitution nucléophile, suivie d'une cyclisation intramoléculaire dite de Rôssing et une condensation de Knoevenagel avec les aldéhydes aromatiques sous courant d'azote. Les aza-aurones sont obtenues avec de bons rendements et sont caractérisées par les méthodes physicochimiques et spectroscopiques usuelles. L'ensemble des résultats obtenus nous a montré que toutes les aza-aurones préparées adoptent la géométrie Z. Vu le grand intérêt que présente ces molécules sur le plan chimique et biologique, nous avons opté dans un premier objectif pour l'étude de la réactivité des dérivés de l'aza-aurone préparées en tant que matériaux de base vis-à-vis des nitrilimines pour construire de nouvelles molécules spirohétérocycliques et l'étude de leur évaluation biologique.

Partie expérimentale

a) Synthèse de l'acide orthophénylglycine carboxylique

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant, on place 300 ml d'eau contenant 0,32 mole de carbonate de sodium, 0,15 mole d'acide anthranilique et 0,15 mole d'acide monochloroacétique. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant quatre heures. La solution est ensuite purifiée sur charbon actif, refroidie et acidifiée par l'acide chlorhydrique concentré, un solide jaune se dépose. Le solide obtenu est ensuite filtré et recristallisé dans l'éthanol (Rdt = 81 %, P.f. = 242 °C) [45,46].

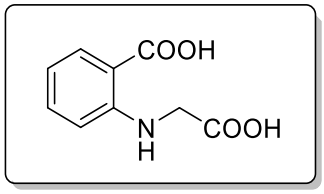


Figure I.15. Acide orthophénylglycine carboxylique

b) Synthèse du diacétylindoxyle

Dans un réacteur de 250 ml surmonté d'un réfrigérant, 10 g de diacide sont additionnés à une solution d'anhydride acétique (100 ml) et de triéthylamine (12 ml). Le mélange réactionnel est porté à reflux, la solution devient rouge puis noircit avec le temps et on maintient le chauffage pendant 30 min. Puis, l'excès de l'anhydride acétique et la triéthylamine est éliminé sous pression réduite et le résidu réactionnel est lavé avec de l'eau et extrait avec le dichlorométhane. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié sur gel de silice avec comme éluant un mélange d'hexane-éther éthylique, puis recristallisé dans l'éthanol. Après filtration, le diacétylindoxyle est obtenu sou forme des aiguilles jaunes obtenus (Rdt = 40 %, Pf = 80 °C) [45,46].

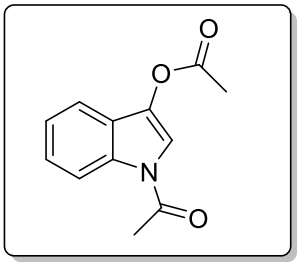


Figure I.16. Diacétylindoxyle

c) Synthèse des aza-aurones 1(a-e)

Dans un tricol surmonté d'un réfrigérant, d'une ampoule à brome et d'un barboteur d'azote, on place 50 ml d'une solution aqueuse de soude (2N). Le courant d'azote est barboté dans la solution sous agitation magnétique pendant 10 min. Ensuite, le diacétylindoxyle (0,01 mole) est additionné. Le mélange est porté au reflux jusqu'à dissolution totale. A l'aide de l'ampoule à brome 0,015 mole de l'arylaldéhyde dissout dans 4 ml d'éthanol est additionné goutte à goutte, le reflux et l'agitation sont poursuivis jusqu'à l'apparition d'un solide orange. Le solide est ensuite filtré et lavé plusieurs fois à l'eau et recristallisé dans l'éthanol.

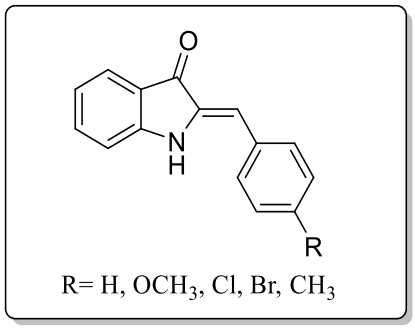


Figure I.17. Les derives de l'aza-aurone (**1a-e**)

***(Z)-2-benzylideneindolin-3-one (1a)*:** Rdt = 90 %; P.f.: 176-178 °C , **IR** (ν, cm^{-1}): 3354 (N-H), 1690 (C=O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6,89 (s, 1H, =CH-), 6.95 (s, 1H, NH), 6.94-6.99 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 7.8 Hz), 7.03 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 7.28-7.36 (m, 1H, H_{ar}), 7.41-7.51 (m, 3H, H_{ar}), 7.55-7.58 (dt, 2H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 7.8 Hz), 7.72-7.75 (dt, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 111.70, 112.09, 120.63, 121.64, 125.01, 128.55, 129.20, 129.58, 134.71, 135.37, 136.24, 153.35, 186.78 (C=O).

***(Z)-2-(4-methoxybenzylidene)indolin-3-one (1b)*:** Rdt = 93 %; P.f.: 178-180 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3365 (N-H), 1695 (C=O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.86 (3H, s, OCH_3), 6.87 (1H, s, =CH-), 6.89 (s, 1H, NH), 6.95-7.05 (m, 4H, H_{ar}), 7.45-7.55 (m, 3H, H_{ar}), 7.76 (d,1H, H_{ar}, J = 7.6 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.40, 112.10, 112.23, 114.80, 120.54, 122.05, 124.91, 127.28, 131.23, 134.29, 135.84, 153.09, 159.95, 186.45 (C=O).

***(Z)-2-(4-chlorobenzylidene)indolin-3-one (1c)*:** Rdt = 85 %; P.f.: 258-260 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3354 (N-H), 1685 (C=O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, DMSO-d_6) (δ/ppm): 6.62 (s, 1H, =CH-), 9.86 (s, 1H, NH) , 6.93(t, 1H, H_{ar}, J = 7.38 Hz) , 7.14 (1H, d, H_{ar}, J = 8.07 Hz) , 7.50-7.60 (m, 4H, H_{ar}), 7.75 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.5 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 108.68, 113.05, 120.40, 124.64, 129.38, 131.91, 133.22, 133.57, 135.15, 136.96, 154.65, 186.83 (C=O).

***(Z)-2-(4-bromobenzylidene)indolin-3-one (1d)*:** Rdt = 91 %; P.f.: 242–244 °C ; **IR** (ν, cm^{-1}): 3342 (N-H), 1660 (C=O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, DMSO- d_6) (δ/ppm): 6.60 (s, 1H, =CH-), 6.93 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.38 Hz), 7.13 (1H, d, H_{ar}, J = 8.07 Hz), 7.51-7.61 (m, 4H, H_{ar}) , 7.69 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.5 Hz), 9.84 (s, 1H, NH); **RMN-^{13}C** (75 MHz, DMSO-d_6) (δ/ppm): 108.3, 113.1, 120.9, 124.2, 129.9, 131.8, 133.2, 133.4, 134.9, 136.5, 154.2, 186.3 (C=O).

***(Z)-2-(4-methylbenzylidene)indolin-3-one (1e)*:** Rdt = 80% ; P.f.: 212°C ; **IR** (ν, cm^{-1}): 3359 (N-H), 1692 (C=O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ /ppm) : 2.34 (3H, s, CH_3), 6.86 (1H, s, H méthylénique), 6.90 (s, 1H, NH), 6.96-7.08 (m, 4H, Har), 7.47-7.57 (m, 3H, Har), 7.78 (d,1H, Har, J = 7.6 Hz) ; **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ /ppm): 22.4, 113.1, 115.2, 114.8, 120.5, 122.0, 124.9, 127.2, 131.2, 134.2, 135.7, 154.0, 159.8, 186.5 (C=O).

Références bibliographiques

1. A. A. Elkanzi, N.; Hrichi, H.; A. Alolayan, R.; Derafa, W.; M. Zahou, F.; B. Bakr, R. Synthesis of Chalcones Derivatives and Their Biological Activities: A Review. *ACS Omega* **2022**, *7*, 27769–27786, doi:10.1021/acsomega.2c01779.
2. M. Lazinski, L.; Royal, G.; Robin, M.; Maresca, M.; Haudecoeur, R. Bioactive Aurones, Indanones, and Other Hemiindigoid Scaffolds: Medicinal Chemistry and Photopharmacology Perspectives. *J. Med. Chem.* **2022**, *0*, doi:10.1021/acs.jmedchem.2c01150.
3. Sui, G.; Li, T.; Zhang, B.; Wang, R.; Hao, H.; Zhou, W. Recent Advances on Synthesis and Biological Activities of Aurones. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, *29*, 115895, doi:10.1016/J.BMC.2020.115895.
4. Saroha, B.; Kumar, G.; Kumar, S.; Kumari, M.; Rani, M.; Raghav, N.; Sahoo, P.K.; Ghosh, S.; Mahata, S.; Nasare, V.D. Novel 1,2,3-Triazole-Aurone Hybrids as Cathepsin B Inhibitors: One-Pot Synthesis, Anti-Proliferative, and Drug Modeling Studies. *Eur. J. Med. Chem. Reports* **2022**, *5*, 100056, doi:10.1016/J.EJMCR.2022.100056.
5. Davion, Y.; Joseph, B.; Mérour, J. Intramolecular Hetero Diels-Alder with Inverse Electron Demand : Synthesis of Pyrano [3 , 2- b] Indole Derivatives. *Synlet* **1998**, *10*, 1051–1052.
6. Guo, C.; Schedler, M.; Daniliuc, C.G.; Glorius, F. N-Heterocyclic Carbene Catalyzed Formal [3+2] Annulation Reaction of Enals: An Efficient Enantioselective Access to Spiro-Heterocycles. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2014**, *53*, 10232–10236, doi:10.1002/anie.201405381.
7. Zhang, L.-J.; Wang, Y.; Hu, X.-Q.; Xu, P.-F. Hydrogen-Bonding Network Promoted [3+2] Cycloaddition: Asymmetric Catalytic Construction of Spiro-Pseudoindoxyl Derivatives. *Chem. An Asian J.* **2016**, *11*, 834–838, doi:10.1002/asia.201600013.
8. Tang, X.; Zhu, H.; Zhou, J.; Chen, Y.; Pan, X.; Guo, L.; Li, J.; Peng, C.; Huang, W. Highly Diastereoselective Synthesis of Cyclopropane-Fused Spiro-Pseudoindoxyl Derivatives through [2+1] Annulation of 2-Ylideneoxindoles and Sulfonium Bromides. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 8169–8174, doi:10.1039/c8ob02034e.
9. Boughaleb, A.; Zouihri, H.; Gmouh, S.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. (2RS,4′RS)-3′-(3-Chloro-4-Methoxyphenyl)-4′-Phenyl- 4′H-Spiro-[Indene-2,5′-Isoxazol]-1(3H)-One Ethanol Monosolvate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2011**, *67*, o2434, doi:10.1107/S1600536811032636.
10. Boughaleb, A.; Zouihri, H.; Gmouh, S.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. (2RS,4′RS)-3′-(3-Chloro-4-Methoxyphenyl)-4′-Phenyl- 4′H-Spiro-[Indene-2,5′-Isoxazol]-1(3H)-One Ethanol Monosolvate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2011**, *67*, doi:10.1107/S1600536811032636.
11. Gerby, B.; Boumendjel, A.; Blanc, M.; Bringuier, P.P.; Champelovier, P.; Fortuné, A.; Ronot, X.; Boutonnat, J. 2-Arylidenedihydroindole-3-Ones: Design, Synthesis, and Biological Activity on Bladder Carcinoma Cell Lines. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 208–213, doi:10.1016/j.bmcl.2006.09.057.
12. Jia, H.; Pan, G.; Wang, Y.; Wen, S.; Guo, Q.; Hu, W.; Yu, P.; Hua, S.; Teng, Y. Design, Synthesis and Primary Biological Evaluation of the Novel Antitumor Agent Indoline-3-One and Its Derivatives. *Proc. 2012 Int. Conf. Appl. Biotechnol. (ICAB 2012)* **2014**, *250*, 875–882, doi:10.1007/978-3-642-37922-2_93.
13. Zhang, M.; Li, T.; Qian, M.; Li, K.; Qin, Y.; Zhao, T.; Yang, L.-Q. Synthesis and Biological Activities of 1-Azaaurone Derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 1574–1578, doi:10.1002/jhet.3190.

14. Carrasco, M.P.; Machado, M.; Gonçalves, L.; Sharma, M.; Gut, J.; Lukens, A.K.; Wirth, D.F.; André, V.; Duarte, M.T.; Guedes, R.C.; et al. Probing the Azaaurone Scaffold against the Hepatic and Erythrocytic Stages of Malaria Parasites. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 2194–2204, doi:10.1002/cmdc.201600327.
15. Souard, F.; Okombi, S.; Beney, C.; Chevalley, S.; Valentin, A.; Boumendjel, A. 1-Azaaurones Derived from the Naturally Occurring Aurones as Potential Antimalarial Drugs. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5724–5731, doi:10.1016/j.bmc.2010.06.008.
16. Shu, C.; Li, L.; Xiao, X.Y.; Yu, Y.F.; Ping, Y.F.; Zhou, J.M.; Ye, L.W. Flexible and Practical Synthesis of 3-Oxyindoles through Gold-Catalyzed Intermolecular Oxidation of o-Ethynylanilines. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 8689–8692, doi:10.1039/c4cc03565h.
17. Liu, D.Q.; Mao, S.C.; Zhang, H.Y.; Yu, X.Q.; Feng, M.T.; Wang, B.; Feng, L.H.; Guo, Y.W. Racemosins A and B, Two Novel Bisindole Alkaloids from the Green Alga Caulerpa Racemosa. *Fitoterapia* **2013**, *91*, 15–20, doi:10.1016/j.fitote.2013.08.014.
18. Genelot, M. Synthèse Sélective de N-Hétérocycles Carbonylés Par Multi-Catalyse Homogène et Hétérogène, Université Claude Bernard-Lyon 1, 2011.
19. An, Z. wei; Catellani, M.; Chiusoli, G.P. A New Palladium-Catalyzed Synthesis of Indoxyl Derivatives. *J. Organomet. Chem.* **1990**, *397*, C31–C32, doi:10.1016/0022-328X(90)80248-X.
20. Carrillo, J.S.; Rizza1, C.; Álvarez, B.E.; Hernández, D.; Y, J.G.; García-Domenech1, R. Aplicación de La Topología Molecular En La Búsqueda de Nuevos Compuestos Basados En Azaauronas Derivados de Las Auronas Naturales Como Potenciales Antimaláricos Application of Molecular Topology in the Search for New Composites Based on Azaaurones Derived. *Nereis. Interdiscip. Ibero-American J. Methods, Model. Simul.* **2017**, *9*, 49–62.
21. Campaniço, A.; Carrasco, M.P.; Njoroge, M.; Seldon, R.; Chibale, K.; Perdigão, J.; Portugal, I.; Warner, D.F.; Moreira, R.; Lopes, F. Azaaurones as Potent Antimycobacterial Agents Active against MDR- and XDR-TB. *ChemMedChem* **2019**, *14*, 1537–1546, doi:10.1002/cmdc.201900289.
22. Gein, V.L.; Tatarinov, V. V.; Rassudikhina, N.A.; Vakhrin, M.I.; Voronina, É. V. Synthesis and Antimicrobial Activity of 2-Aroylmethylene-6-Hydroxy-2,3-Dihydroindol-3-Ones. *Pharm. Chem. J.* **2011**, *45*, 231, doi:10.1007/s11094-011-0602-2.
23. Tóth, T.; Szepesi, Á.; Tran-Nguyen, V.-K.; Sarkadi, B.; Német, K.; Falson, P.; Pietro, A. Di; Szakács, G.; Boumendjel, A. Synthesis and Anticancer Cytotoxicity of Azaaurones Overcoming Multidrug Resistance. *Molecules* **2020**, *25*, 764, doi:10.3390/molecules25030764.
24. Lawson, M.A.; Mariotte, A.M.; Boumendjel, A. A Short Method for the Synthesis of 4,6-Dimethoxy-1-Azaaurones. *Heterocycl. Commun.* **2003**, *9*, 149–152, doi:10.1515/HC.2003.9.2.149.
25. Souard, F.; Okombi, S.; Beney, C.; Chevalley, S.; Valentin, A.; Boumendjel, A. 1-Azaaurones Derived from the Naturally Occurring Aurones as Potential Antimalarial Drugs. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5724–5731, doi:10.1016/j.bmc.2010.06.008.
26. Aksenov, N.A.; Aksenov, D.A.; Arutiunov, N.A.; Aksenova, D.S.; Aksenov, A. V.; Rubin, M. Unexpected Cyclization Ofortho-Nitrochalcones into 2-Alkylideneindolin-3-Ones. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 18440–18450, doi:10.1039/d0ra03520c.
27. Genelot, M.; Bendjeriou, A.; Dufaud, V.; Djakovitch, L. Optimised Procedures for the One-Pot Selective Syntheses of Indoxyls and 4-Quinolones by a Carbonylative Sonogashira/Cyclisation Sequence. *Appl. Catal. A Gen.* **2009**, *369*, 125–132, doi:10.1016/j.apcata.2009.09.016.
28. Li, R.; Qi, X.; Wu, X.-F. A General and Convenient Palladium-Catalyzed Synthesis of

Benzylideneindolin-3-Ones with Formic Acid as the CO Source. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 6905–6908, doi:10.1039/c7ob01557g.

29. Smalley, R.K.; Smith, R.H.; Suschitzky, H. Thermal Rearrangement of 3-(β-Styryl)-2, 1-Benzisoxazoles. A New Synthesis of 3-Aryl-4-Quinolones and 2-Arylideneindoxyls. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 2309–2312, doi:10.1016/S0040-4039(01)91522-9.
30. Abonia, R.; Cuervo, P.; Castillo, J.; Insuasty, B.; Quiroga, J.; Nogueras, M.; Cobo, J. Unexpected Intramolecular Cyclization of Some 2′-Aminochalcones to Indolin-3-Ones Mediated by Amberlyst®-15. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5028–5031, doi:10.1016/j.tetlet.2008.06.047.
31. Aksenov, N.A.; Aksenov, A. V.; Kurenkov, I.A.; Kirillov, N.K.; Aksenov, D.A.; Arutiunov, N.A.; Aksenova, D.S.; Rubin, M. One-Pot Synthesis of (E)-2-(3-Oxoindolin-2-Ylidene)-2-Arylacetonitriles. *Molecules* **2022**, *27*, 2808, doi:10.3390/molecules27092808.
32. Zhou, J.; Wang, B.; He, X.H.; Liu, L.; Wu, J.; Lu, J.; Peng, C.; Rao, C.L.; Han, B. Asymmetric Construction of 4 H-Pyrano[3,2-b]Indoles via Cinchonine-Catalyzed 1,4-Addition of 2-Ylideneoxindole with Malononitrile. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 5450–5459, doi:10.1021/acs.joc.9b00430.
33. Lévai, A.; Patonay, T. Reaction of E-2-arylidene-1-indanones, Z-aurones, Z-1-thioaurones and Z-2-arylidene-2,3-dihydro-1H-indol-3-ones with Diazomethane. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, *36*, 747–753, doi:10.1002/jhet.5570360328.
34. Velezheva, V.S.; K. V., N.; Suvorov, N.N. New Method of Synthesis of δ-Carbolines from 3-Indolinone via Pyrano[3,2-b]Indoles. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1985**, *21*, 191–192, doi:10.1007/BF00504208.
35. Yang, L.; Huang, W.; He, X.H.; Yang, M.C.; Li, X.; He, G.; Peng, C.; Han, B. Stereoselective Synthesis of Hydropyrano[3,2-b]Indoles via Organocatalytic Asymmetric Inverse-Electron-Demand Oxa-Diels–Alder Reaction. *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 2970–2975, doi:10.1002/adsc.201600465.
36. Velezheva, V.S.; Brennan, P.J.; Marshakov, V.Y.; Gusev, D. V.; Lisichkina, I.N.; Peregudov, A.S.; Tchernousova, L.N.; Smirnova, T.G.; Andreevskaya, S.N.; Medvedev, A.E. Novel Pyridazino[4,3-b]Indoles with Dual Inhibitory Activity against Mycobacterium Tuberculosis and Monoamine Oxidase. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3455–3461, doi:10.1021/jm030479g.
37. Monteiro, Â.; Gonçalves, L.M.; Santos, M.M.M. Synthesis of Novel Spiropyrazoline Oxindoles and Evaluation of Cytotoxicity in Cancer Cell Lines. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *79*, 266–272, doi:10.1016/j.ejmech.2014.04.023.
38. Dadiboyena, S. Cycloadditions and Condensations as Essential Tools in Spiropyrazoline Synthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 347–377, doi:10.1016/j.ejmech.2013.01.059.
39. Mondal, M.; Connolly, S.; Chen, S.; Mitra, S.; Kerrigan, N.J. Recent Developments in Stereoselective Reactions of Sulfonium Ylides. *Organics* **2022**, *3*, 320–363, doi:10.3390/ org3030024.
40. Rössing, A. Beobachtungen Über Innere Condensationen Bei Abkömmlingen Des Salicylaldehyds. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1884**, *17*, 2988–3010, doi:10.1002/cber.188401702277.
41. Daisley, R.W.; Elagbar, Z.A.; Walker, J. Reaction of Indol-3(2H)-one Derivatives with Some Active Methylene Compounds. *J. Heterocycl. Chem.* **1982**, *19*, 1013–1016, doi:10.1002/jhet.5570190506.
42. Rodríguez-Domínguez, J.C.; Balbuzano-Deus, A.; López-López, M.A.; Kirsch, G. An Improved Synthesis of 1-Acetyl-1H-Indol-3-Yl Acetates. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 273–275, doi:10.1002/jhet.5570440146.

43. Petermayer, C.; Dube, H. Circular Dichroism Photoswitching with a Twist: Axially Chiral Hemiindigo. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 13558–13561, doi:10.1021/jacs.8b07839.
44. Hooper, M.; Pitkethly, W.N. 2-Arylmethylideneindolin-3-Ones: Stereochemistry and Reduction with Sodium Borohydride. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1972**, *13*, 1607–1613, doi:10.1039/P19720001607.
45. Jarkas, N. Synthèse d'analogues Biheterocycliques de Pyrimidocarbazoles à Partir de 3-Oxobenzo[b]Furane, Selenophene et Thiophene, Université Paul Verlaine-Metz, 1997.
46. Deprets, S. Fonctionnalisation Des 3-Oxo-Benzo[b]Furane,-Thiophène,-Sélénophène et de l'indoxyle Pour Des Réactions de Couplage Catalysées Par Le Palladium: Application à La Synthèse de Systèmes Tétracycliques, Universite de Metz, 1998.

Chapitre II : Synthèse et évaluation biologique des spiropyrazolines indolin-3-ones

I. Introduction

Les composés spiro-hétérocycliques constituent une classe importante d'hétérocycles qui ont reçu une attention particulière en raison de leur présence dans des produits bioactifs, naturels et synthétiques [1–4]. Ces hétérocycles sont dotés d'une rigidité conformationnelle caractéristique et une géométrie tridimensionnelle leur permettant des interactions fortes avec des cibles biologiques [1].

Les spiropyrazolines comptent parmi les spiro-hétérocycles ayant suscité un intérêt considérable en chimie hétérocyclique [5–9]. Leur structure moléculaire de base est formée de cycle pyrazoline connecté à un second cycle par l'intermédiaire de l'atome de carbone C5 pyrazolinique (*figure II.1*). Le carbone spiro est l'attraction principale de la spiropyrazoline qui offre un renforcement et une rigidité à ce système.

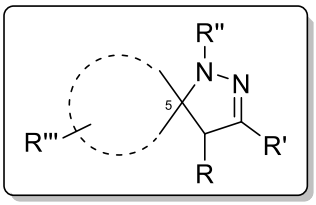


Figure II.1. Structure des spiropyrazolines

La fraction spiropyrazoline a été incorporée dans une variété des molécules dotés de nombreuses propriétés pharmacologiques [5,7,9–20] (*figure II.2*). En raison de l'importance biologique et pharmacologique des spiropyrazolines, une attention particulière a été accordée à la synthèse de ces motifs et à l'étude de leurs activités potentielles [16,17,20]. En outre, ces hétérocycles sont devenus des cibles intéressantes dans la synthèse organique en raison de leur implication comme synthons bénéfiques pour l'obtention des spirocyclopropanes, des pyrazoles, et d'autres structures moléculaires à valeur ajoutée. Par conséquent, la recherche des procédures efficaces et pratiques pour la synthèse des spiropyrazolines demeure toujours un sujet pertinent et opportun dans le domaine de la synthèse organique.

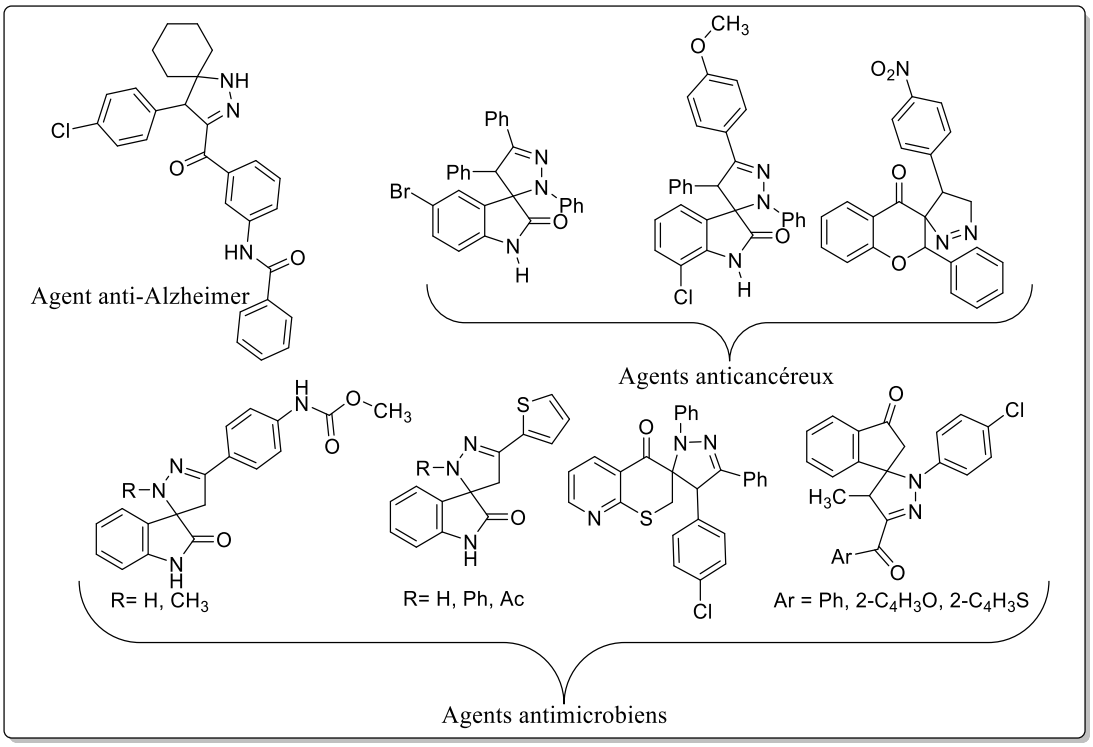


Figure II.2. Spiropyrazolines biologiquement actifs

Les spiro-indolinones, appelés aussi spiro-oxindoles sont parmi les structures spiraniques les plus privilégiées dans le domaine de la chimie médicinale [21–24]. Ils sont prédominants dans le squelette de base de plusieurs alcaloïdes naturels dotés de propriétés biomédicales très prononcées tels que la Fluorocurine, la Rauniticine, la Mitraphylline, la Horsfiline, Mitragynine, la Rhynchophylline, l'Austamide, la Brévianamide B, etc (*figure II.3*) [2,23,25].

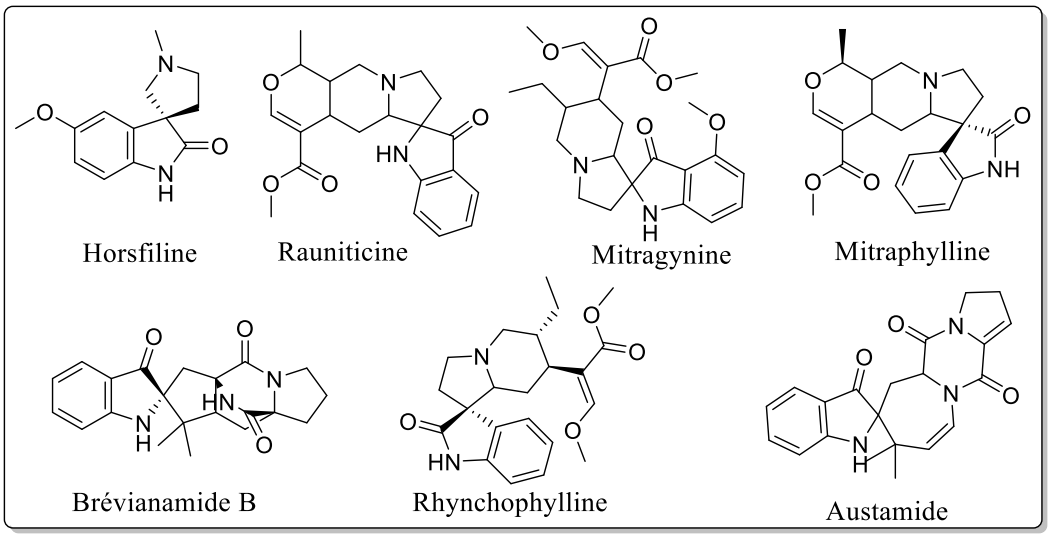


Figure II.3. Produits naturels contenant le noyau indolinone

Malgré que les composés spirohétérocycliques formés de noyaux indolin-2-one et pyrazoline ont montré une bio-activité remarquable contre des souches cellulaires cancéreuses et micro-organismes pathogènes [10–13,17,20,26], l'étude bibliographique réalisée montre que les

spiropyrazoline indolin-3-ones n'ont pas été suffisamment étudiés et exploités dans le domaine de la chimie médicinale.

La formation des nouveaux motifs spiropyrazoline-indolinone par combinaison du squelette indolinone avec l'unité pyrazoline serait donc une stratégie très attrayante et prometteuse dans l'enquête des molécules dotées d'activités biologiques potentielles. Dans le cadre de nos travaux de recherche dédiés à la synthèse des composés spiraniques [27,28], nous présentons dans ce deuxième chapitre la synthèse d'une nouvelle gamme de spiropyrazoline indolinones **3** à partir des arylidène-indolin-3(*2H*)-ones **1** et les résultats de l'évaluation de leurs activités biologiques. Avant de présenter nos résultats nous décrivons dans un premier lieu les méthodes décrites dans la littérature pour la synthèse des spiropyrazoline indolin-2-ones

II. Méthodes de synthèse des spiropyrazoline oxindoles

Au cours des dernières années, la synthèse des spiropyrazoline-oxindoles a suscité un intérêt accru, en raison de la présence des squelettes pyrazoline et oxindole dans plusieurs molécules bioactives. Les données de la littérature mentionnent une multitude de méthodes permettant l'accès aux dérivés du spiropyrazoline oxindole [8,29]. Les réactions de cyclocondensation et de cycloaddition dipolaires-1,3, sont parmi les stratégies classiques de synthèse les plus généralement employées.

II.1. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction de cyclo-condensation

La réaction de cyclocondensation est un exemple typique de réactions organiques dans laquelle deux molécules ou fragments interagissent en s'unissant pour former une seule molécule [8,11]. A ce processus de condensation, une perte d'une petite molécule à savoir H_2O, HCl, etc, est généralement associée [26,30]. Ces réactions de condensations occupent une place de choix en synthèse organique et sont très employées pour la synthèse de noyaux hétérocycliques de tailles variées [26,29]. Dans cette section, nous décrivons un bref aperçu sur les réactions de cyclocondensation appliquées à la synthèse de spiropyrazoline oxindoles.

L'indole-2,3-dione dite isatine est un précurseur précieux en synthèse organique, elle est impliquée dans plusieurs applications en chimie pour la construction de molécules bioactives [31]. En présence d'une base, ces indole-2,3-diones réagissent avec l'*α*-tétralone ou des acétophénones para-substituées pour fournir des intermédiaires carbonylés *α,β*-insaturés. Les chalcones préparées sont ensuite mises en réaction avec l'hydrazine ou la phénylhydrazine dans des conditions de reflux d'éthanol pour donner les spiropyrazoline oxindoles souhaitées (*schéma II.1*) [32–34].

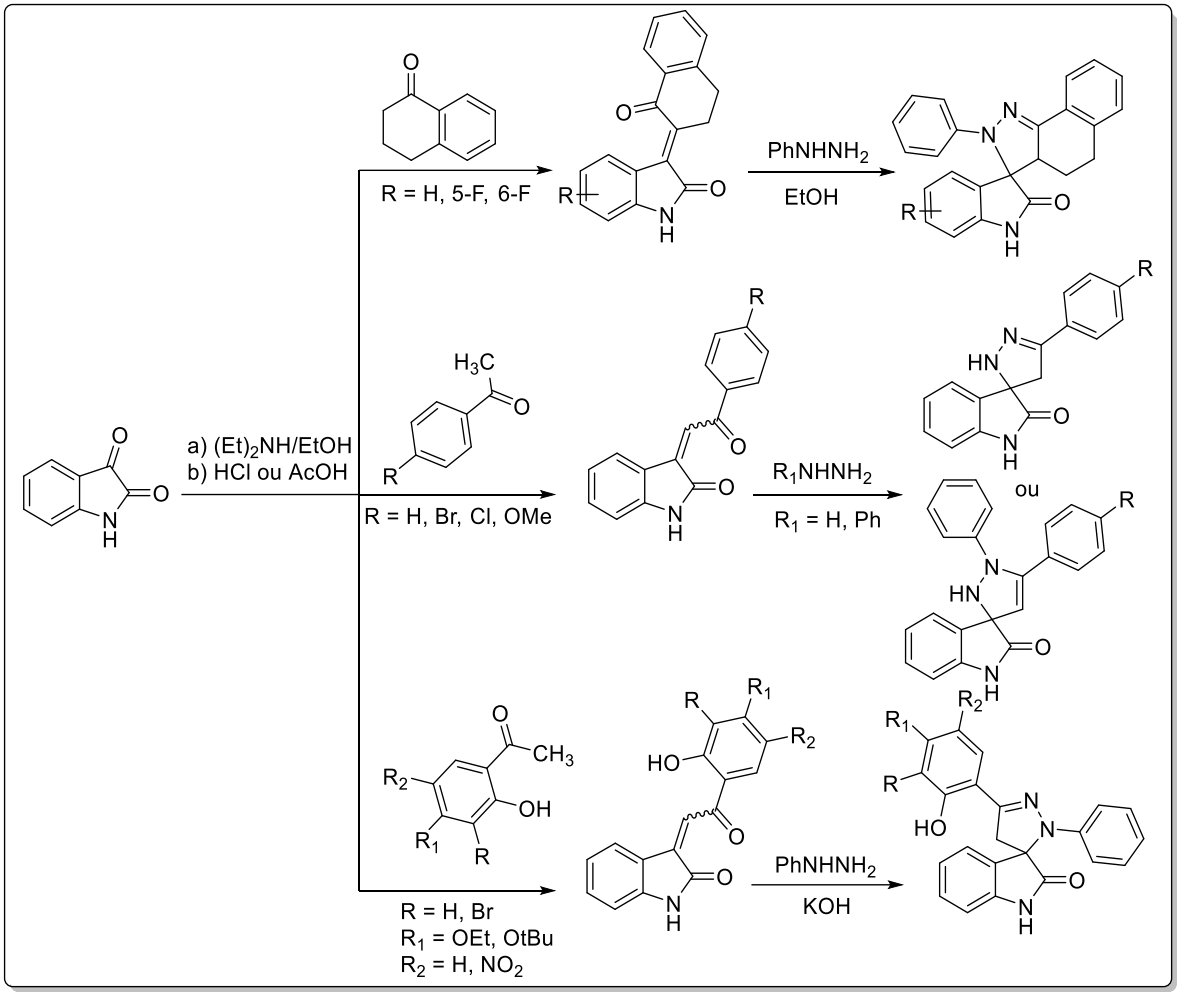


Schéma II.1

Dans un autre travail, Aoyagi et *al.* ont soumis des dérivés de la 3-phénacylidèneindolin-2-one *N*-substituée à l'action de l'hydrate d'hydrazine. Les auteurs ont isolé des spiropyrazoline indolinones avec des rendements modérés à excellents (*schéma II.2*) [35]. Les spiropyrazoline oxindoles synthétisés ont été ensuite traités par l'anhydride acétique pour aboutir à la formation de nouveaux analogues acétylés. Récemment, Monteiro et *al*. ont utilisé les 3-phenacylidèneindolin-2-ones substitués avec l'atome d'azote non protégé comme substrats de base et ont montré que la réaction de cyclocondensation avec l'hydrazine conduit également aux spiropyrazoline oxindoles avec des bons rendements [17].

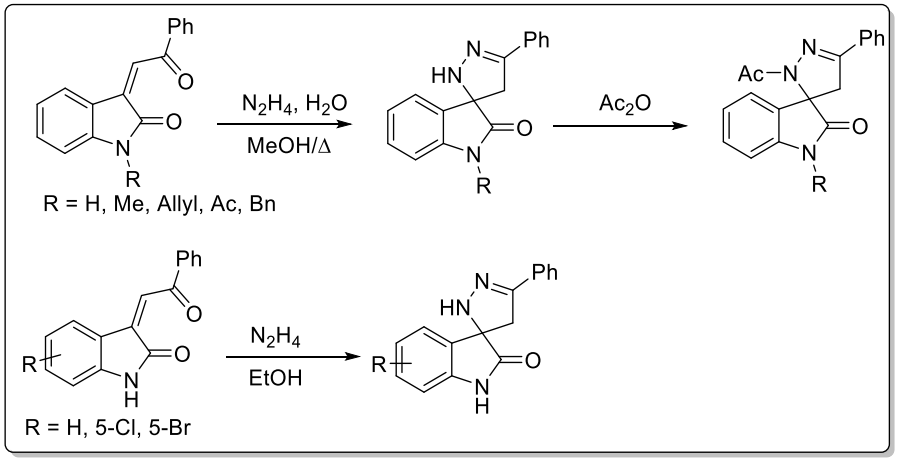


Schéma II.2

II.2. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction de cycloaddition dipolaire-1,3

Les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 représentent l'une des stratégies les plus aisément appliquées à la construction d'hétérocycles bioactifs d'importance pharmaceutique [18,36]. Résultant des travaux pionniers de Rolf Huisgen [37,38], les réactions de cycloaddition trouvent toujours des applications potentielles en chimie organique synthétique et en chimie médicinale, et sont souvent une étape déterminante dans la construction de nouveaux hétérocycles [29]. La caractéristique essentielle du mécanisme de la cycloaddition dipolaire-1,3 est la régio- et la diastériosélectivité qui lui sont associées, ainsi que l'interaction du dipôle-1,3 avec le dipolarophile qui s'effectue d'une manière concertée [8]. Plusieurs travaux décrivent la réaction de cycloaddition dipolaire entre des dipôles-1,3 tels que les nitrile imines, les diazoalcanes avec des dipolarophiles portant des cétones *α,β*-insaturées exocycliques pour générer les spiropyrazoline oxindoles ont été rapportés. Cette section fournit un aperçu global de l'approche cycloaddition dipolaire-1,3 pour l'obtention des molécules spiraniques renfermant à la fois les noyaux indolinone et pyrazoline.

II.2.1. Les dipôles-1,3 nitrile imines

Depuis la découverte des nitriles imines (NI) (*figure II.4*) par Rolf Huisgen [39], ces dipôles-1,3 ont attiré beaucoup l'attention des chimistes organiciens en raison de leur large application dans la synthèse de molécules biologiquement actives [36].

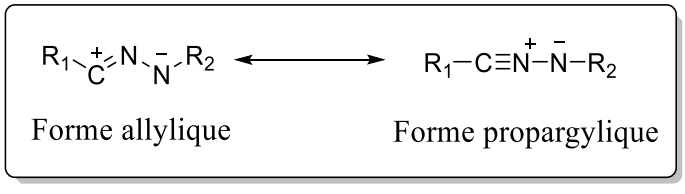


Figure II.4

Les nitrilimines ne sont pas isolées en raison de leurs instabilités, elles sont générées *in situ* en milieu réactionnel à partir de leurs précurseurs halogénés sous l'action d'une base (*schéma II.3*). Elles peuvent également être préparées par oxydation des aldéhydes hydrazones, par thermolyse des tétrazoles substitués, ou encore par dégradation photochimique des sydnones [40,41]. Cependant, la méthode la plus courante pour former les NIs est la déshydrohalogénation d'halohydrazonyles *in situ* en milieu basique.

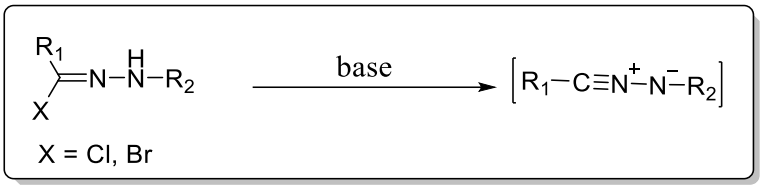


Schéma II.3

Les NIs subissent des réactions régiosélectives de cycloaddition dipolaire-1,3 avec des alcènes et conduisent de préférence aux pyrazolines 5-substituées. En général, la régiosélectivité des cycloadditions dipolaires-1,3 est interprétée dans le cadre des interactions orbitalaires HOMO et LUMO du dipôle et du dipolarophile. La diastéréo-sélectivité quant-à-elle est souvent liée à la stéréochimie du dipolarophile (faces non identiques), et/ou, au dipôle-1,3 possédant un centre stéréogène et à l'effet du catalyseur [29,36].

a) Synthèse régio- et diastéréosélective

Singh et *al*. ont rapporté la synthèse des spiropyrazoline 2-oxindoles via une réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des nitrile imines avec des 3-alkylidène oxindoles avec d'excellentes régio- et diastéréosélectivité [42]. Les auteurs ont montré que la nature des précurseurs des nitrile imines exerce un effet considérable sur le résultat de la réaction de cycloaddition. Les produits spiraniques ont été obtenus avec des rendements plus élevés à partir des bromures d'hydrazonoyles qu'à partir des dérivés chlorés correspondants. De même, les substitutions à toutes les positions possibles de l'oxindole ont été bien tolérées (*schéma II.4*).

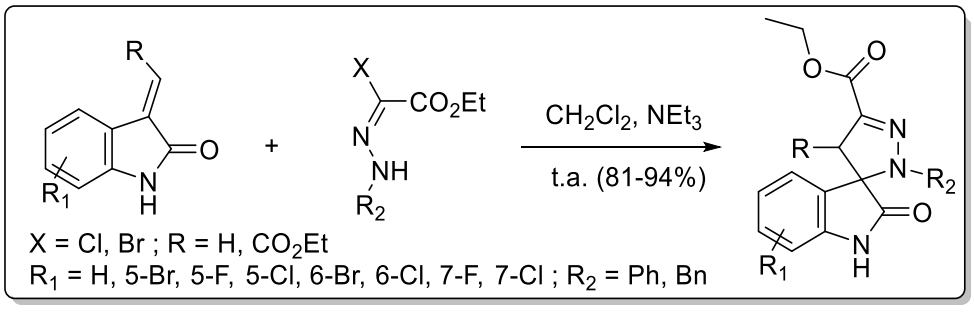


Schéma II.4. Synthèse de spiropyrazolines-oxindoles

Une étude similaire a été réalisée par l'équipe de Monteiro en utilisant la réaction de cycloaddition dipolaire de nouveaux type des nitriles imines pour la construction des spiropyrazoline [17]. Les spiropyrazolines oxindoles ont été synthétisés par réaction des 3-méthylène-indolinones appropriées avec des chlorures d'hydrazonyle (*schéma II.5*). Les nitrile imines utilisés ont été générés *in situ* par la déshydrohalogénation des pressureurs chlorés en présence d'une base.

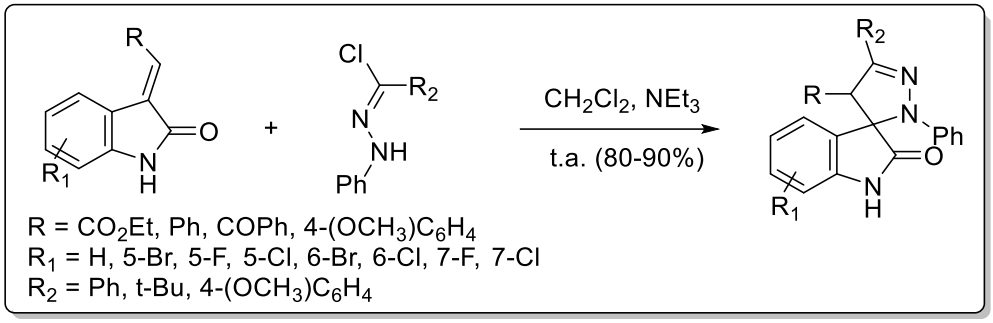


Schéma II.5. Synthèse de spiropyrazolines-oxindoles

b) Synthèse régio- et énantiosélective

La réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 énantiosélective constitue une voie de synthèse pour une variété d'hétérocycles chiraux, qui peuvent servir de blocs de construction synthétiques en chimie hétérocyclique. Dans ce cadre, Wang et *al.* ont développé une nouvelle cycloaddition dipolaire-1,3 catalytique asymétrique des nitrile imines avec des 3-alkylidène oxindoles et 3-arylidène oxindoles en utilisant un complexe chiral (L-$Mg(ClO_4)_2$) d'un ligand N,N′-dioxyde pour l'élaboration des spiropyrazoline oxindoles chiraux (*schéma II.6*) [43]. L'utilisation du métal $Mg(ClO_4)_2$ et du ligand N,N′-dioxyde en présence de DIPEA a permis d'obtenir une excellente régiosélectivité et une énantiosélectivité élevée jusqu'à 99 % ee dans le cas où le substituant en position β du substrat méthylène-indolinone est un groupe alkyle volumineux ou un groupe aryle *ortho*-substitué. La nature stérique des substituants sur les 3-alkenyl-oxindoles est d'une grande influence sur l'énantiosélectivité, par rapport aux propriétés électroniques des substituants.

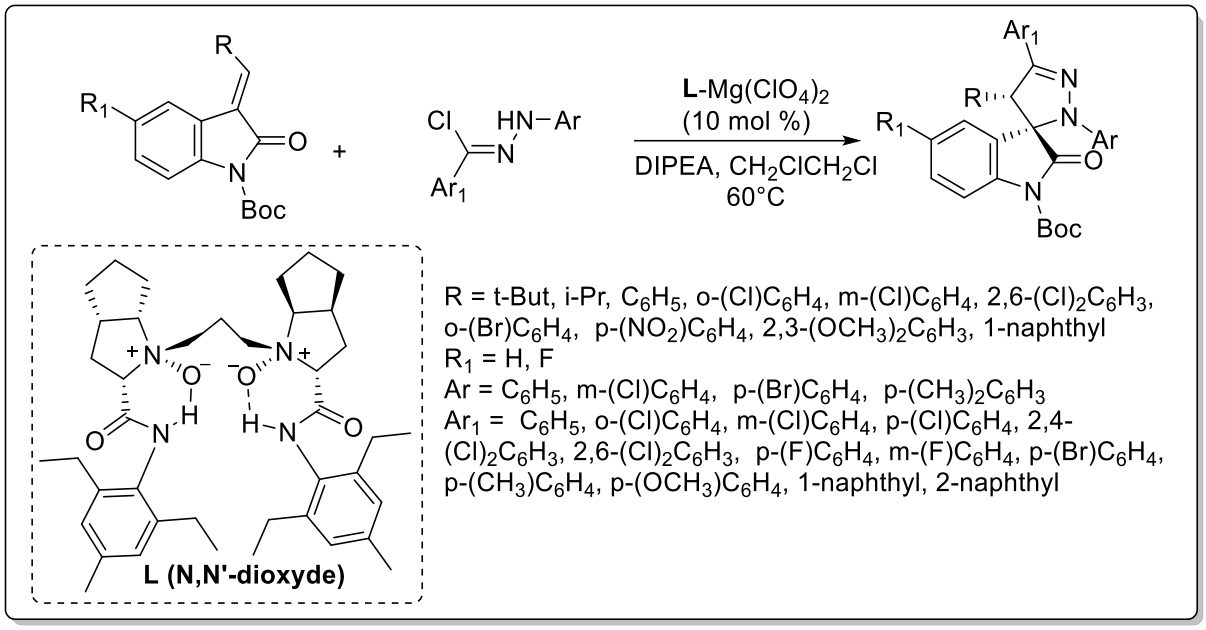


Schéma II.6. Synthèse énantiosélectivite des spiropyrazoline oxindoles

Une cycloaddition dipolaire-1,3 énantiosélective catalytique similaire a été décrite par Gerten et *al*. [44] où les nitrile imines ont été générés à partir des bromures d'hydrazonoyle (*schéma II.7*). Les spiropyrazoline-oxindoles ont été synthétisés avec des bons rendements (jusqu'à 98 %) et une grande énantiosélectivité jusqu'à 99 % ee en présence d'un catalyseur généré *in situ* à partir de $Mg(NTf_2)_2$ et d'un ligand bisoxazolinique.

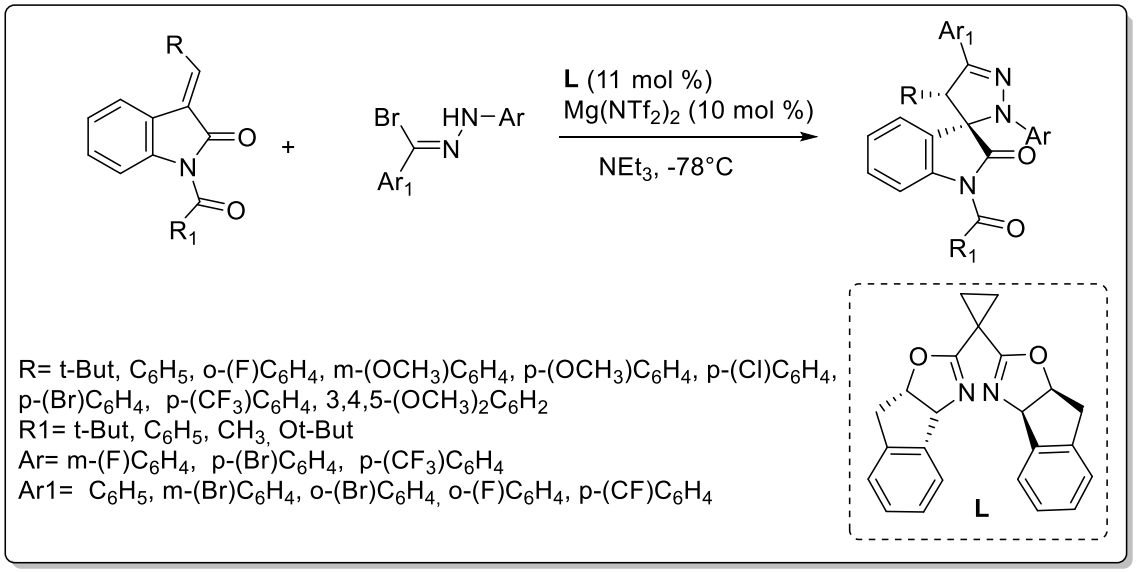


Schéma II.7. Synthèse asymétrique des spiropyrazoline-oxindoles

II.2.2. Les dipôles-1,3 diazo phosphorylés

Les composés diazo phosphorylés sont des précurseurs utiles ayant trouvé un large éventail d'applications potentielles en synthèse organique [45]. La réaction de ces derniers avec les

α,β-énones ou d'autres dipolarophiles est une approche efficace pour la synthèse d'une grande variété de spiropyrazolines phosphorylés.

Gupta et *al.* ont rapporté l'application du réactif de Bestmann-Ohira (α-diazo-β-oxopropyl phosphonate) comme dipôle approprié dans la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 [46]. Les autours ont montré que la réaction des 3-arylidène oxindoles avec le réactif de Bestmann-Ohira dans le méthanol en présence de l'hydroxyde de potassium a donné des spiropyrazoline-oxindoles d'une manière régio- et diastéréosélective et avec des rendements élevés. Un mécanisme plausible implique l'action de l'anion diazophosphonate généré sur les chalcones d'une manière concertée pour fournir après une protonation les spiropyrazoline oxindoles phosphonates souhaités est donné dans le *schéma II.8*.

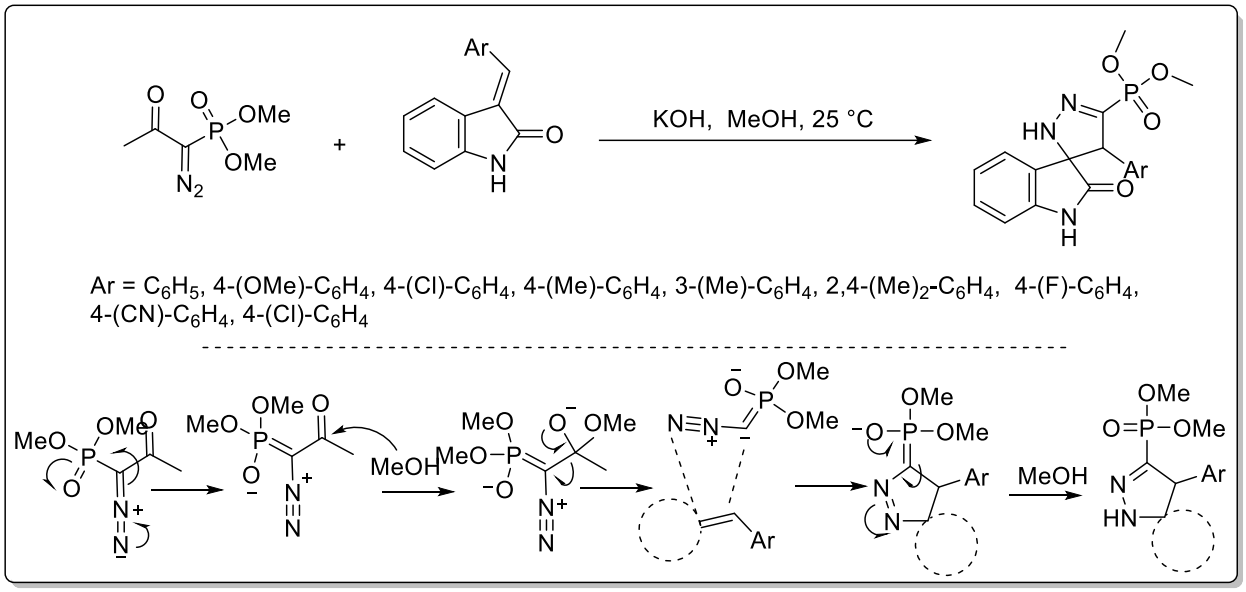


Schéma II.8. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles phosphonylés

L'étude de la réaction des dérivés de l'isatylidène malononitrile avec le diazométhylphosphonate de diméthyle pour la construction des spiropyrazoline oxindoles phosphonates a été également explorée [47]. Le diazométhylphosphonate de diméthyle connu par le réactif de Seyferth-Gilbert a été largement utilisé pour la synthèse des hétérocycles phosphonylés [48]. La réaction est effectuée en présence d'un dérivé d'alcaloïde de quinquina comme catalyseur et a permis la synthèse d'une série de spiro-phosphonylpyrazoline-oxindoles chiraux avec de bons rendements et d'excellentes énantiosélectivités (*schéma II.9*).

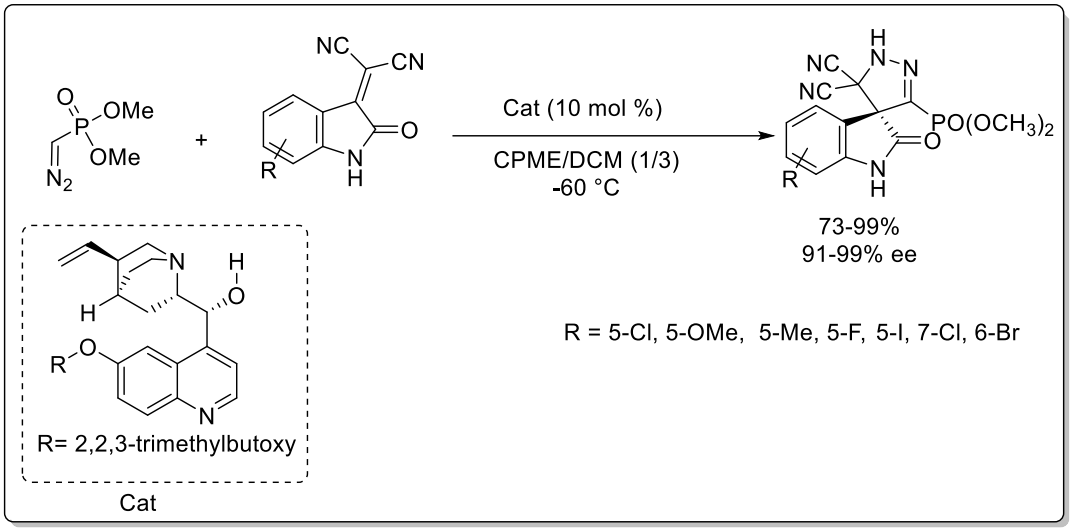


Schéma II.9. Synthèse asymétrique des spiropyrazoline oxindoles phosphonylés

II.3. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par réaction multi-composante

Les réactions multicomposantes (RMCs) sont apparues comme une nouvelle stratégie en chimie organique synthétique pour la découverte des médicaments. Les RMCs constituent un outil de synthèse précis permettant d'accéder à des produits présentant une complexité et une diversité structurelles en combinant trois substrats ou plus en une seule étape, avec une efficacité de synthèse et un nombre réduit de réactions et d'étapes de purification. Elles sont devenues de plus en plus utilisées dans tous les domaines de la synthèse organique.

Comme décrit précédemment, les spiropyrazoline oxindoles sont généralement synthétisés par les méthodes de synthèse classique basées sur les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 ou de condensation comme étape essentielle. Cependant, Rezvanian et Babashah ont récemment réussi à développer une méthode alternative aux synthèses traditionnelles pour accélérer l'accès aux spiropyrazoline oxindoles hautement fonctionnalisées [49]. Cette approche repose sur l'utilisation d'une réaction à six composants de méthylène actif, d'isatine, d'hydrate d'hydrazine et de dithioacétal nitrocétène en une seule étape. Les réactifs sont combinés dans des conditions douces à température ambiante et en l'absence de catalyseur. Les produits désirés sont obtenus avec des bons rendements. Le mécanisme réactionnel proposé par les auteurs est détaillé dans le *schéma II.10*.

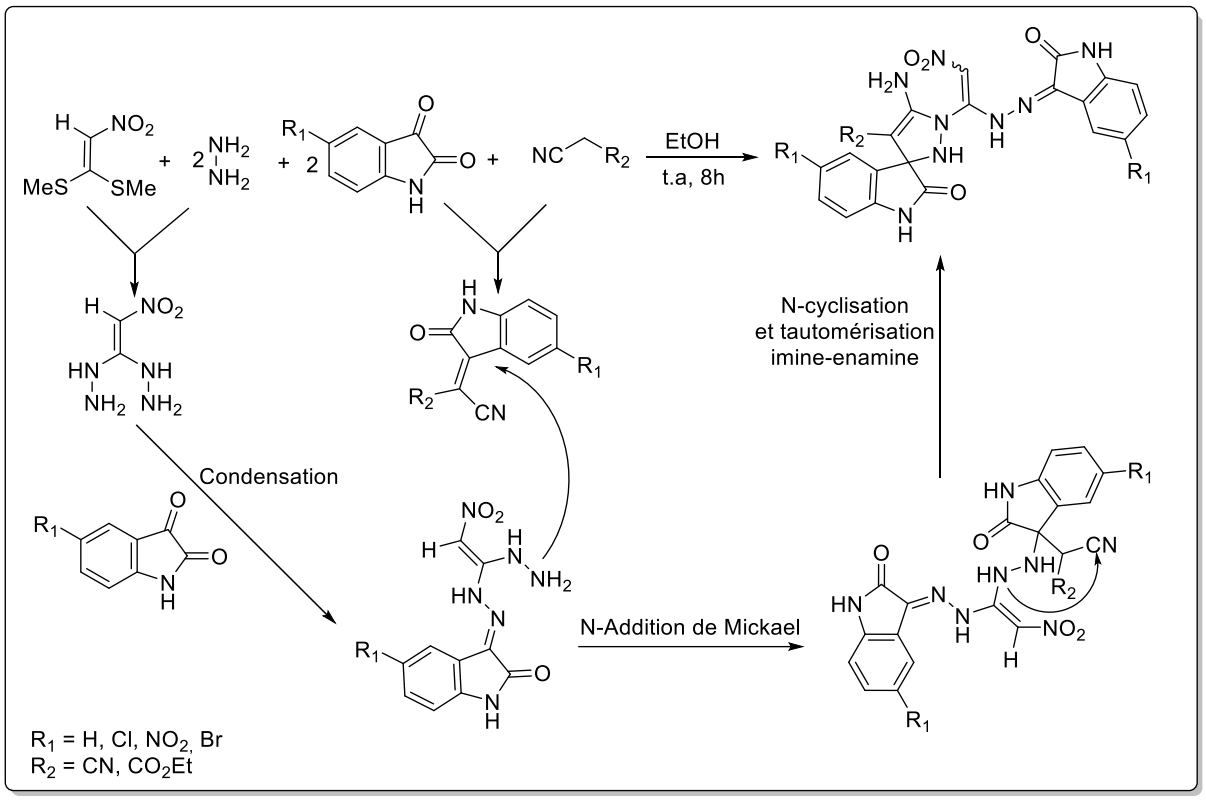


Schéma II.10

Une autre nouvelle approche verte, multi-composante, en une seule étape pour accéder aux spiropyrazoline oxindoles hautement fonctionnalisées a été décrite par Singh et *al*. (*schéma II.11*) [50]. La réaction met en jeu les dérivés de l'isatine, des hydrazines substituées et la 2-phénylacétophénone ou la propiophénone dans des conditions douces sans catalyseur. Les réactifs sont combinés pour fournir les produits souhaités avec des rendements élevés et des temps de réaction courts.

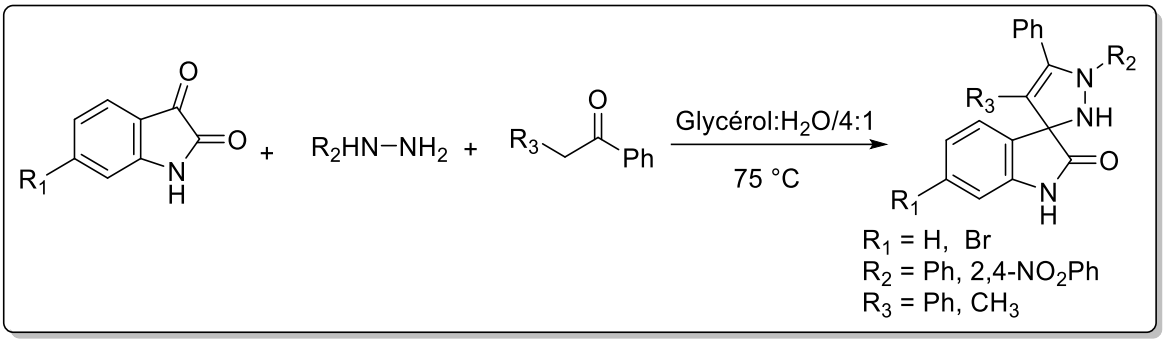


Schéma II.11

II.4. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par des azoesters

Les composés azoïques disubstitués par des groupements attracteurs d'électrons, tels que les groupes acyle, ester et nitrile, sont largement utilisés comme réactifs en synthèse organique.

Les azodicarboxylates de dialkyle sont les substrats les plus disponibles parmi les azoïques et les plus utilisés en tant qu'éléments essentiels pour la synthèse de molécules complexes [51].

Un nouveau protocole impliquant les azodicarboxylates de dialkyle pour la synthèse des spiropyrazolines oxindoles hautement fonctionnalisés a été rapporté par Yang et *al*. [12]. La réaction des 3-alkylidène-oxindoles et les azodicarboxylates de dialkyle en présence de la triphénylphosphine dans le tétrahydrofurane (THF) à température ambiante conduit à la formation des spiropyrazoline oxindoles avec des bons rendements et une diastéréosélectivité élevée. Le mécanisme de la formation des produits spiraniques commence par la génération des intermédiaires zwitterioniques (zwitterions de Huisgen) par l'action de la triphénylphosphine sur les azodicarboxylates de dialkyle, suivie d'une addition conjuguée subséquente des zwitterions aux 3-alkylidène oxindoles. La cyclisation intramoléculaire de l'intermédiaire généré et l'élimination de l'oxyde de triphénylphosphine conduit aux spiropyrazoline oxindoles souhaités (*schéma II.12*).

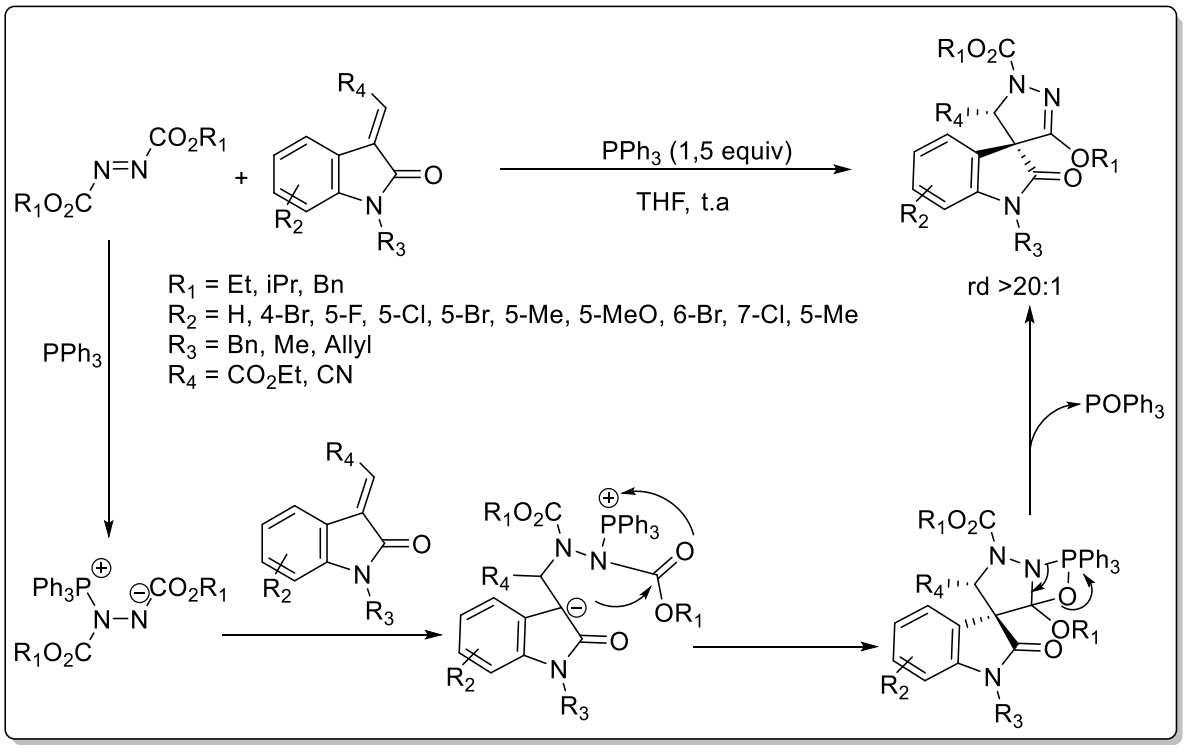


Schéma II.12

De même, la réaction des adduits de Morita–Baylis–Hillman (MBH) dérivés de l'isatine avec des azoesters catalysée par la 4-dimethylaminopyridine (DMAP) conduit aux spiropyrazoline oxindoles d'une manière hautement régiosélective avec de bons rendements (*schéma II.12*) [52].

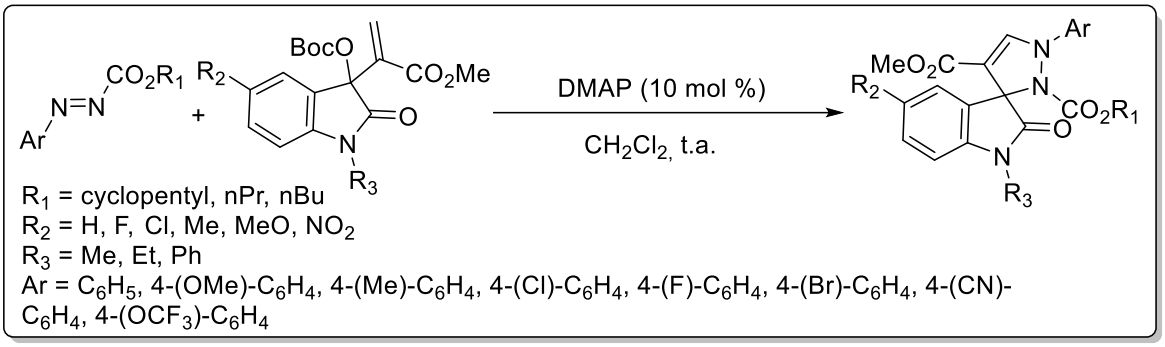


Schéma II.13

II.5. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles par des azoalcènes

Les azoalcènes dits 1,2-diaza-1,3-diènes peuvent être facilement générés *in situ* à partir des hydrazones α-halogénées correspondantes en présence d'une base. Ces réactifs ont été établis comme une classe puissante de blocs de construction synthétiques. Ils ont trouvé une large application dans diverses réactions pour accéder aux composés hétérocycliques azotés. Du fait de leur caractère électrophile, il est très facile de réaliser sur les azoalcènes diverses additions, ioniques de type Michaël ou concertées de type cycloaddition [53,54].

Chen et *al.* ont récemment publiés pour la première fois une nouvelle méthode alternative pour la synthèse des spiropyrazoline oxindoles par l'utilisation des azoalcènes [55]. Cette stratégie consiste à faire réagir les dérivés de 3-bromooxindole et de l'α-halogénohydrazone en présence de carbonate de césium à température ambiante (*schéma II.14*). La grande tolérance des groupes fonctionnels et la simplicité opérationnelle font de ce procédé une approche efficace et douce pour l'obtention de divers spiropyrazoline oxindoles avec des rendements généralement élevés.

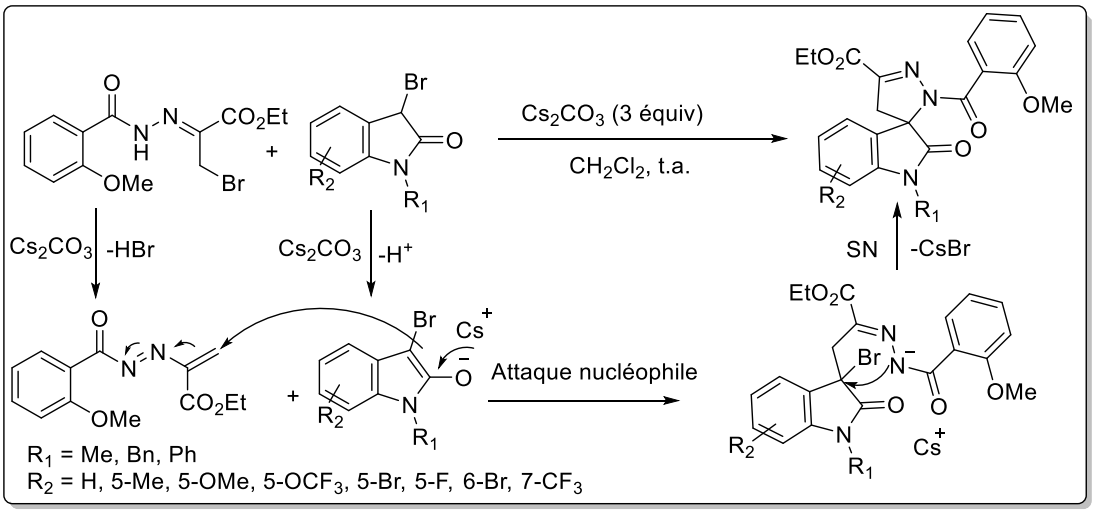


Schéma II.14

De leur part, Quan et *al*. ont synthétisé une variété de spiropyrazoline oxindoles avec des rendements allant jusqu'à 99% via le processus d'annulation [4+1] entre les ylures de pyridinium oxindoles et les azoalcènes générés *in situ* par l'action de carbonate de sodium (*schéma II.15*) [56].

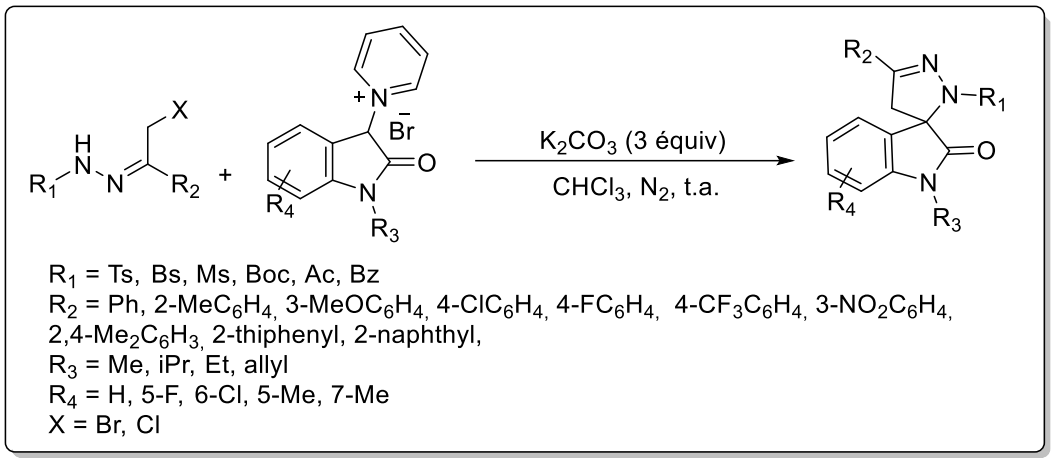


Schéma II.15

III. Synthèse des spiropyrazoline oxindoles à partir de l'aza-aurone

Depuis plusieurs années, notre laboratoire s'intéresse aux composés carbonylés *α,β*-insaturés comme synthons polyvalents pour la synthèse de nombreux dérivés spirohétérocycliques [57,58]. Dans la continuité des travaux de recherche développés par notre équipe de recherche, nous avons visé l'étude de la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des N-phényl-C-arylnitrilimines avec les dérivés de l'aza-aurone. Pour ce faire, nous avons, dans un premier temps, entrepris la synthèse des chloroarylidène-phényl-hydrazone, précurseurs chlorés des diarylnitrilimines. La préparation de ces derniers se fait en deux étapes selon les procédures rapportées dans la littérature par Pechman et *al*. [59] et Huisgen [39]. les *β*-aroylarylhydrazones sont préparées d'abord par action de la phénylhydrazine sur le chlorure de benzoyle dans la pyridine anhydre [60], La chloration des hydrazones est réalisée par le pentachlorure de phosphore dans l'éther éthylique anhydre [59] (*schéma II.16*).

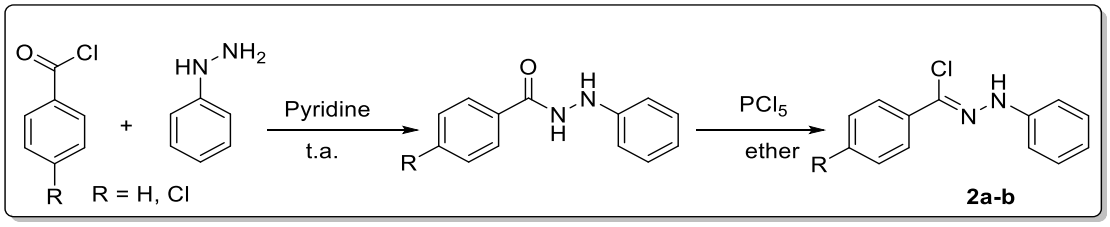


Schéma II.16. Synthèse des précurseurs des diarylnitrilimines

Dans un deuxième temps, nous avons mis en réaction les *N*-phényl-C-arylnitrilimines avec les aza-aurones **1a-e** dans le chloroforme à température ambiante pour former les spiropyrazoline

oxindoles souhaités **3a-i**. Les *N*-phényl-C-arylnitrilimines sont générées *in situ* à partir des précurseurs α-chloroarylidène-phényl-hydrazones préparées **2a-b** sous l'action de la triéthylamine *(schéma II.17*) [61]. La réaction conduit à un seul produit d'après l'analyse du brut réactionnel par chromatographie sur couche mince. De plus, le traitement de brut réactionnel nous a permis d'isoler d'une manière reproductible, un seul produit avec un bon rendement. D'après l'analyse du brut réactionnel, nous avons remarqué que la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 aboutit uniquement au régioisomère **3** d'une manière régio-spécifique et dans aucun cas la formation du régioisomère **3'** n'a été détectée. Le comportement observé lors de la cycloaddition dipolaire-1,3 des aza-aurones avec les nitrilimines est complètement différent de celui observé chez les autres analogues oxygénés [62] et soufrés [63]. Ces derniers conduisent à des cycloadduits spiraniques instables qui se transforment dans le milieu réactionnel. La structure des cycloadduits synthétisés **3a-i** a été établie par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN-^{1}H et RMN-^{13}C) et aussi par l'analyse élémentaire.

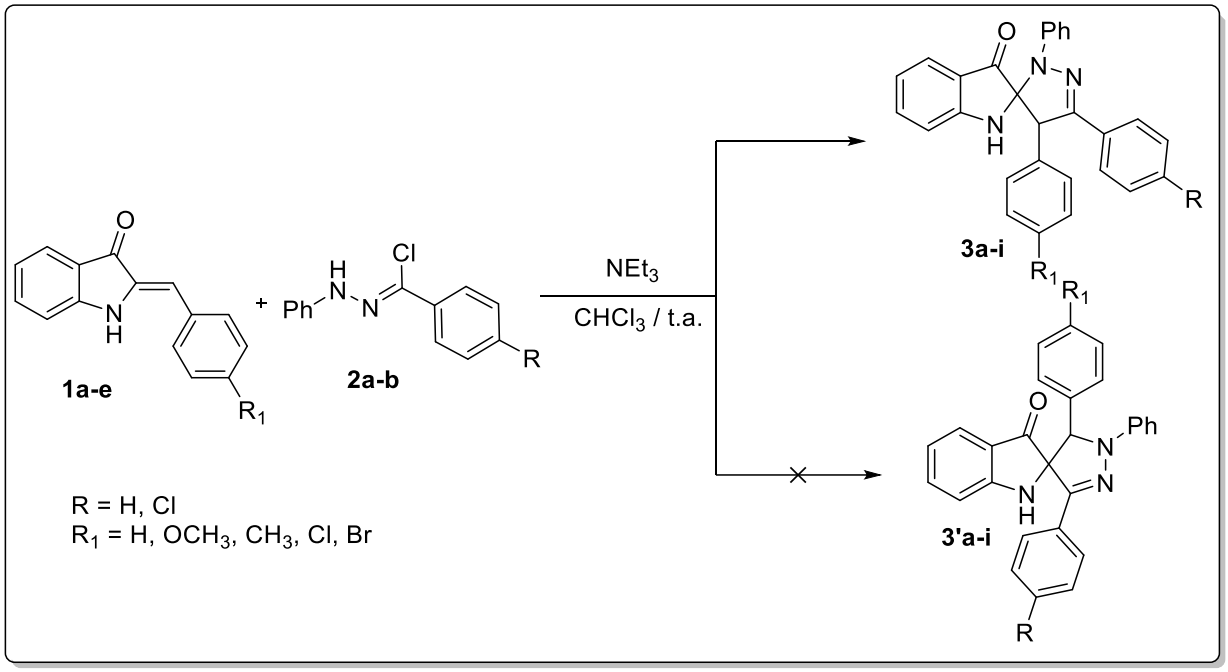


Schéma II.17. Voie de synthèse des spiropyrazolines **3**(**a-i**).

III.1. Détermination structurale des cycloadduits obtenus

La régiochimie proposée **3** est comparable à celle observée dans le cas où le dipolarophile mis en œuvre est un alcène à double liaison exocyclique, à savoir les 2-arylidène-indan-1-ones, 2-arylidènes-tétral-1(*2H*)-ones, 3-arylidène-chromen-4(*3H*)-ones, L'atome d'azote de la nitrilimine se trouve lié au carbone le plus substitué de la double liaison du dipolarophile [6,64–66]. Cette régiochimie a été aussi vérifiée sur la base des données spectrales RMN (^{1}H

et ^{13}C) et Infrarouge (IR). Le problème de la diastéréochimie n'est pas envisagé dans notre cas puisque les deux faces du dipolarophile ne sont pas diastéréotopiques. Par conséquent, le dipôle peut s'approcher du dipolarophile d'un côté comme de l'autre pour conduire à la création de deux centres de chiralité C_4 et $C_{2':5}$ du cycle pyrazolinique.

III.1.1. Spectroscopie infrarouge

Le spectre IR du cycloadduit **3a**, révèle en particulier la présence des bandes d'absorptions vers 3346, 1701 et 1592 cm^{-1} attribuables respectivement aux vibrations des liaisons N-H, du groupement carbonyle C=O et de la liaison C=N. La présence du groupement carbonyle montre bien que la réaction s'est effectuée sur la double liaison exocyclique (*figure II.5*).

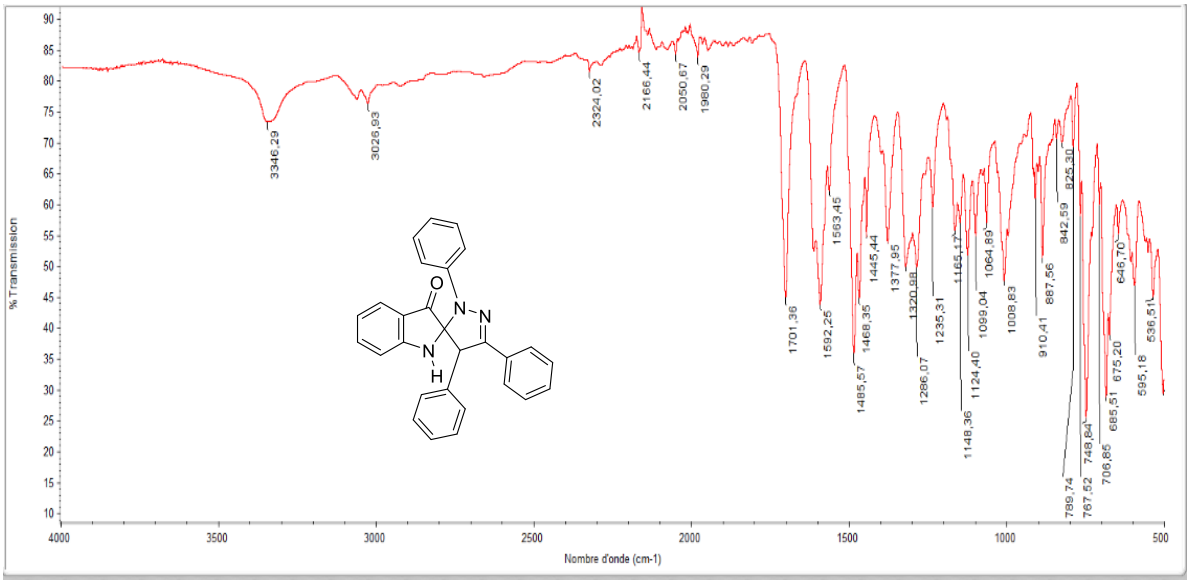


Figure II.5. Spectre IR du cycloadduit **3a**

III.1.2. Spectroscopie RMN ^1H

Le spectre RMN ^1H de composé **3a** montre la présence d'un signal singulet vers 5 ppm attribuable au proton benzylique H_4, par contre pour l'autre régioisomère on doit s'attendre pour le proton H_5 à un signal déblindé par l'effet attractif de l'atome d'azote, la valeur de déplacement chimique de proton benzylique H_4 est identique avec celles décrites dans la littérature [6,64–66]. De plus, on relève un signal singulet à 4,48 ppm attribuable au proton de l'amine secondaire NH qui disparait par addition de l'eau deutéré (D_2O). Les protons aromatiques quant-à-eux résonnent entre 6,47 et 7,72 ppm (*figure II.6*).

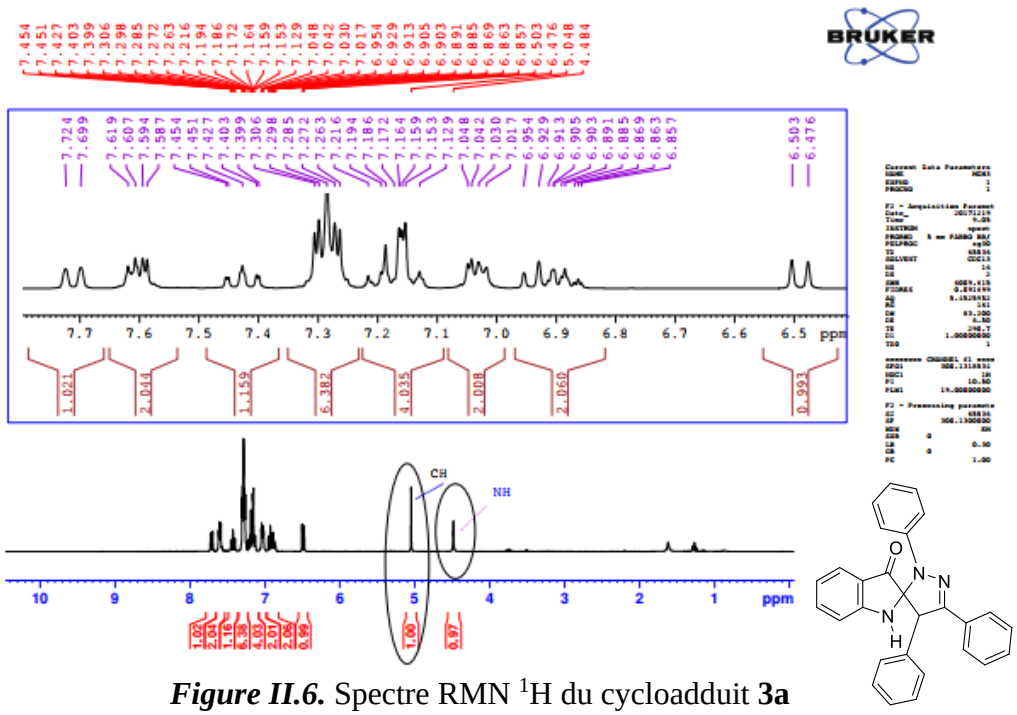


Figure II.6. Spectre RMN ^{1}H du cycloadduit **3a**

III.1.3. Spectroscopie RMN ^{13}C

Les données issues du spectre RMN ^{13}C du produit **3a** confirme d'avantage la régiochimie proposée, le déplacement chimique observé pour le carbone spiranique $C_{5,2'}$ est de l'ordre de 87 ppm. Par contre, pour l'autre régioisomère il faudrait s'attendre à des valeurs beaucoup plus faibles pour le carbone spiranique $C_{4,2'}$. Cette valeur de déplacement chimique attribuée au carbone $C_{5,2'}$ est caractéristique d'un carbone aliphatique lié à un hétéroatome [6,65,66].

De même, la valeur de déplacement chimique vers 60 ppm attribuée à l'atome de carbone tertiaire C_4 du composé **3a** en RMN ^{13}C est en accord avec celles retrouvées dans la littérature [64–66]. Les résultats spectroscopiques obtenus sont en faveur de la régiochimie proposée pour les dérivés du spiro-pyrazoline-indolinone **3** (*figure II.7*).

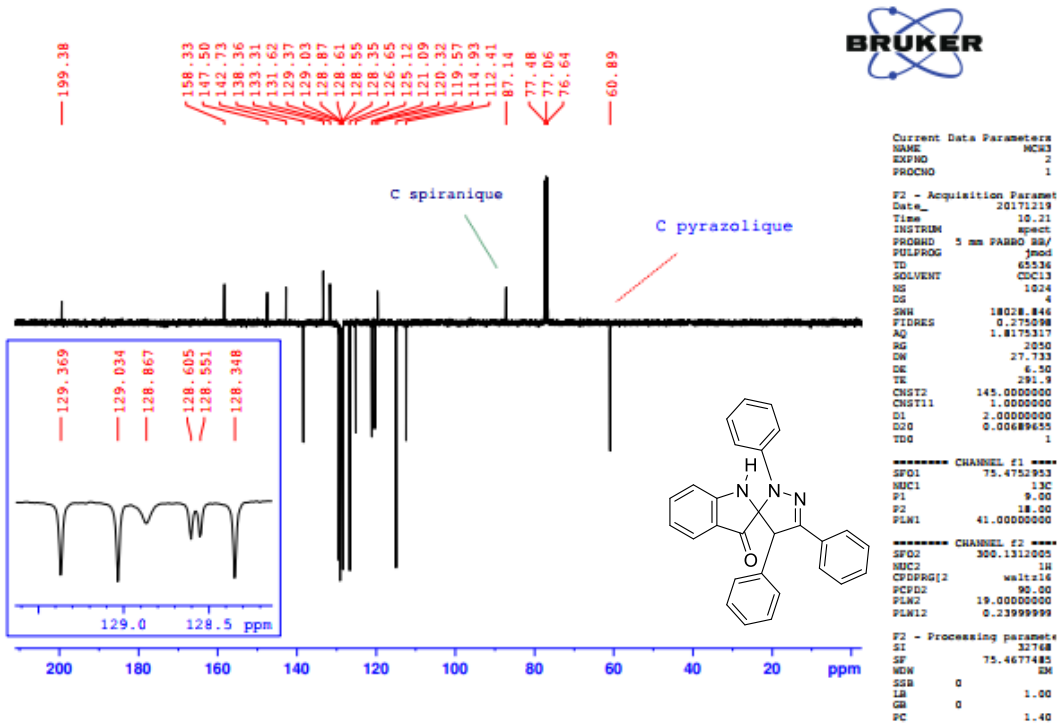


Figure II.7. Spectre RMN ^{13}C du cycloadduit **3a**

Les résultats relatifs aux études spectroscopiques IR et RMN du proton et du carbone 13 et analytiques de tous les spiropyrazolines synthétisées (**3a-i**) sont regroupés dans le *tableau II.1*.

Tableau II. 1. Caractéristiques spectroscopiques et analytiques des spiropyrazolines (**3a-i**)

Composés			RMN-^{1}H		RMN-^{13}C			IR		Analyse élémentaire (%)	
N°	**R**	**R$_1$**	**δ(NH)^b**	**δ(H$_4$)**	**δ(C$_4$)**	**δ(C$_{5,2'}$)**	**δ(CO)**	**υ(NH)^c**	**υ(CO)**	***Calculée***	***Trouvée***
3a	-	-	4,48	5,04	60,8	87,1	199,3	3346	1701	C : 80,94; H: 5,09; N: 10,11	C : 79,61; H : 5,23; N : 9,97
3b	Cl	-	7,68^d	5,18	61,0	87,7	200,1	3349	1703	-^{e}	-
3c	-	OCH_3	4,52	4,98	60,1	87,2	199,5	3345	1703	C : 78,18; H : 5,20; N : 9,43	C : 78,50; H : 5,17; N : 9,63
3d	Cl	OCH_3	4,41	4,86	59,9	87,1	199,2	3370	1703	C : 72,57; H : 4,62; N : 8,76	C : 72,30; H : 4,65; N : 8,72
3e	-	CH_3	4,47	4,99	60,4	87,1	199,4	-	-	C : 81,09; H : 5,40; N : 9,78	C : 80,97; H : 5,41; N : 9,97
3f	-	Cl	4,55	5,02	60,3	87,0	199,1	3351	1708	C : 74,75; H : 4,48; N : 9,34	C : 74,79; H : 4,46; N : 9,77
3g	Cl	Cl	4,51	4,97	60,0	87,1	198,9	3340	1710	-	-
3h	-	Br	4,51	5,00	60,3	87,0	199,1	3373	1710	-	-
3i	Cl	Br	4,52	4,96	60,3	87,0	198,9	3353	1706	-	-

^{a}F : Formule chimique, ^{b}δ en ppm, ^{c}υ en cm^{-1}, ^{d}Spectre enregistré dans le DMSO- d_6, ^{e} : Analyse non réalisée

IV. Evaluation biologique des spiropyrazolines synthétisés

La lutte contre les maladies et la souffrance a constitué depuis longtemps une préoccupation majeure pour l'humanité. Le développement de la science et de la technologie ont permis de surmonter beaucoup de problèmes liés à la santé des vivants, en particulier la résistance développée au long du temps par les micro-organismes infectieux. De nouvelles stratégies sont conçues par les chercheurs dans divers domaines de la chimie pour pallier au phénomène de la résistance microbienne, et trouver des remèdes contre les nouvelles pathologie [67,68].

Parmi les stratégies conçues pour la découverte des candidats-médicaments prometteurs, la modification chimique et structurale des principes actifs déjà approuvés et disponibles, ou la synthèse de nouveaux composés et l'évaluation de leurs propriétés biologiques [69]. En outre, la découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique exige une approche multidisciplinaire et complexe qui intègre de manière interactive des compétences dans les domaines de la chimie et de la biologie. Dans cette approche, la chimie des hétérocycles occupe une position centrale pour fournir de nouvelles structures moléculaires intéressantes [70–72]. C'est pourquoi, l'exploration des structures hétérocycliques dans la conception et la découverte de médicaments est d'une popularité importante en chimie médicinale et constitue désormais la préoccupation majeure des chimistes organiciens au cours des dernières années. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre objectif dans la suite de ce chapitre qui est basé principalement sur l'évaluation biologique des spiropyrazoline oxindoles synthétisés.

IV.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont inévitablement générés dans les processus métaboliques fondamentaux pour les organismes vivants [73]. Cependant, une production exagérée des ERO lors des réactions en chaîne dans le processus d'oxydation, entraîne des dommages oxydatifs au niveau des cellules, des lipides, des protéines et des acides nucléiques [74]. Le déséquilibre entre la production des radicaux libres et l'incapacité de l'organisme à se défendre contre ces espèces, peut entraîner un stress oxydatif.

Le phénomène de stress oxydatif est considéré aujourd'hui comme une cause principale d'apparition et de développement de diverses pathologies telles que les maladies cardio-vasculaires, le cancer, le diabète, l'inflammation et les maladies neurodégénératives, telle la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, etc [75,76]. Pour se prémunir contre ces pathologies, il est impératif de concevoir et de développer des antioxydants puissants pour protéger le corps humain contre les radicaux libres et réduire le dommage oxydatif.

IV.1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont définis comme des atomes ou des molécules possédant un électron non-apparié. Cette propriété confère à ces espèces une grande réactivité en raison de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déséquilibrant ainsi d'autres molécules [77,78]. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

Parmi les espèces réactives oxygénées (ERO) qui peuvent se produire au cours du métabolisme cellulaire à l'état physiologique normal, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie appelés les radicaux libres primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet}$), le radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$), le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), le radical peroxyle ($ROO^{\bullet}$) et le radical alkoxyle ($RO^{\bullet}$) [78,79]. D'autres molécules, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ion peroxynitrite ($ONOO^{-}$), sont des substances oxygénées réactives non radicalaires : ce ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres et ils peuvent en générer par différentes réactions chimiques [78,80].

Les radicaux libres sont utilisés par l'organisme comme médiateurs pour la régulation des fonctions cellulaires telles que la prolifération et la mort cellulaire programmée (apoptose). Cependant, ces espèces constituent également la cause principale de certaines pathologies chroniques [77,78,81].

IV.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des agents susceptibles de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et aident à maintenir des concentrations non cytotoxiques de radicaux libres au sein de la cellule. Ils combattent les radicaux libres en intervenant à l'une des trois étapes principales du processus oxydatif médié par les radicaux libres, à savoir l'initiation, la propagation et la terminaison [77].

Les antioxydants sont de type naturel et synthétique. Parmi les substances d'origine naturelles qui sont capables d'agir en tant que antioxydants on trouve : le *β*-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés polyphénoliques, etc. Il existe aussi un nombre important d'antioxydants synthétiques qui sont largement utilisés en raison de leurs efficacités tels le di-tertiobutylhydroxytoluène (BHT) et le teriobutylhydroxyanisole (BHA) (*figure II.8*). La puissante capacité de ces agents à empêcher les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est essentiellement attribuable à leur structure phénolique.

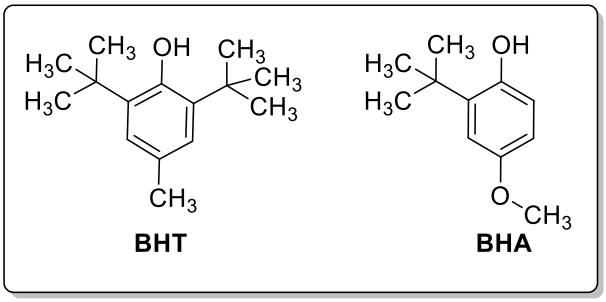


Figure II.8. Structures des antioxydants synthétiques

IV.1.3. Méthodologies utilisées pour l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est définie comme la capacité à piéger les radicaux libres par la libération d'un atome d'hydrogène ou d'un électron et la stabilisation du radical formé. Il existe une multitude d'approches pour évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des composés [82]. Ces approches peuvent être classées en deux catégories selon leurs mécanismes : soit par le transfert d'un atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un électron unique. Parmi ces techniques, nous citons la méthode DPPH$^{\bullet}$ et la méthode FRAP que nous utiliserons par la suite pour mesurer le pouvoir antioxydant de nos produits.

IV.1.3.1. Test DPPH$^{\bullet}$: Principe de la méthode

La méthode de piégeage des radicaux libres α,α-diphényl-β-picrylhydrazyl (DPPH$^{\bullet}$) (*figure II.9*) offre la première approche pour évaluer le potentiel antioxydant d'un composé, d'un extrait ou d'autres sources biologiques [83]. Cette méthode est souvent utilisée pour évaluer la capacité d'un composé à céder un électron ou un proton pour réduire le radical DPPH$^{\bullet}$, et permet de mesurer le pouvoir antiradicalire d'une manière efficace, facile et peu coûteuse. En outre, contrairement à d'autres tests, les conditions utilisées (solvants organiques et basse température) évitent l'auto-oxydation des substances testées.

Dans cette méthode, le produit à doser est additionné à une solution de DPPH$^{\bullet}$ (méthanol ou éthanol). La solution est maintenue à l'obscurité, puis la réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH$^{\bullet}$ est suivie par spectroscopie UV-visible en enregistrant l'absorbance du DPPH$^{\bullet}$ après une période définie.

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées : la détermination de la réduction relative du radical DPPH$^{\bullet}$ à un temps de référence ou la mesure de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% du DPPH$^{\bullet}$, ainsi que le suivi de la cinétique de la réduction [82]. Dans notre recherche, nous avons opté pour la première méthode, où l'activité est exprimée par l'indice de réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage de piégeage du radical DPPH$^{\bullet}$ (%).

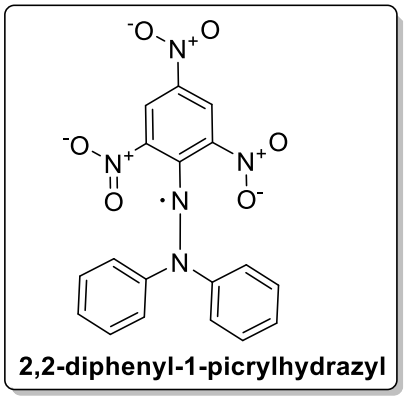


Figure II.9. Structure chimique du radical libre DPPH•

IV.1.3.2. Méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son éventuelle activité antioxydante [84]. La réduction du Fe^{3+} est fréquemment employée pour examiner la possibilité de la substance à céder des électrons. Cette capacité est un facteur important de son effet antioxydant. Le mécanisme du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) est basé principalement sur le transfert d'électrons plutôt que sur le transfert d'atomes d'hydrogène.

Le test FRAP est peu coûteux, les réactifs sont simples à préparer, les résultats sont hautement reproductibles et la procédure est simple et rapide. Ce test est basé sur la capacité d'une molécule à réduire les ions ferriques Fe^{3+} présents dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en ions ferreux Fe^{2+} à un pH faible ce qui entraîne la formation d'un complexe coloré. Ensuite, la détermination de l'absorbance du milieu réactionnel est effectuée à 700 nm. Toute augmentation de l'absorbance est proportionnelle à l'augmentation du pouvoir réducteur des produits testés.

IV.1.4. Evaluation in vitro du pouvoir antioxydant des composés 3(a-i)

IV.1.4.1. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH)

Pour évaluer le potentiel antioxydant des composés spiro-hétérocycliques cibles, la capacité de piégeage des radicaux libres a été déterminée par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH, en utilisant l'hydroxytoluène butylé (BHT) comme contrôle positif. Les résultats de l'activité de piégeage des radicaux DPPH du standard et des composés spiraniques cibles à différentes concentrations sont exprimés en moyenne, et regroupés dans le *tableau II.2*.

Les résultats du dépistage préliminaire révèlent que les composés spiraniques testés présentent une activité antioxydante variable contre les radicaux DPPH. En effet, la capacité de piégeage des radicaux libres (DPPH) augmente en fonction de la concentration des spiropyrazolines oxindoles testés, et devienne plus proche de celle du standard à des concentrations élevées

pour certains composés. Cette activité peut être associée à la présence du noyau indolinone [85], puisque plusieurs travaux publiés ont montré que les dérivés indoliques sont des candidats antioxydants efficaces [85]. La différence observée au niveau de l'activité antioxydante entre les divers composés étudiés peut être attribuée à l'effet et la nature des substituants portés par les phényles [86]. Parmi les neuf produits testés, les composés **3c** (R = OCH_3, R_1 = H) et **3e** (R = CH_3, R_1 = H) montrent une activité antioxydante remarquable due probablement à l'existence des substituants méthyle et méthoxy donneurs d'électrons (*figure II.10*) [87]. De plus, pour le composé **3d** (R = OCH_3, R_1 = Cl) nous avons remarqué que l'introduction d'un atome du chlore au niveau du substituant R_1 conduit à une légère diminution de l'activité antiradicalire en comparaison avec le composé **3c** (R = OCH_3, R_1 = H). La même tendance a été observée pour les dérivés de la série **3a** (R = H, R_1 = H) et **3b** (R = H, R_1 = Cl). Ce résultat montre en outre l'influence négative des substituants attracteurs d'électrons sur la capacité de piégeage des radicaux libres. Le reste des composés ont montré une activité anti-radicalaire faible par rapport à l'antioxydant standard, à l'exception du composé **3h** (R = Br, R_1 = H) qui présente une activité antioxydante significative dans les concentrations élevées (*figure II.10*).

Tableau II.2. Activité antioxydante *in vitro* par la méthode DPPH des spiropyrazolines (**3a-i**)

Pourcentage de piégeage du radical DPPH (%) (moyenne ± D.S.)							
Composés			**Concentrations en µg/ml**				
N°	**R**	**R_1**	**62.5**	**125**	**250**	**500**	**1000**
3a	-	-	43,28±1,25	46,71±0,68	47,03±0,81	54,92±1,37	61,25±0,44
3b	-	Cl	43,98±1,43	44,45±1,08	45,15±0,78	45,85±1,45	47,57±1,74
3c	OCH_3	-	**55,54±0,68**	**57,54±0,97**	**60,26±1,04**	**63,98±1,40**	**81,12±1,71**
3d	OCH_3	Cl	**47,18±0,75**	**51,42±1,17**	**54,14±0,77**	**59,84±1,02**	**74,84±0,61**
3e	CH_3	-	**48,39±0,62**	**50,73±0,64**	**52,76±0,72**	**54,61±1,64**	**80,63±1,42**
3f	Cl	-	38,98±0,43	42,73±0,67	48,75±0,42	49,61±1,03	52,89±0,67
3g	Cl	Cl	31,01±0,56	32,29±0,92	34,76±0,81	40,23±0,94	54,85±1,47
3h	Br	-	28,04±0,68	29,76±0,84	46,79±0,63	**65,39±1,32**	**76,52±0,93**
3i	Br	Cl	46,01±0,56	46,71±0,34	47,11±1,31	48,13±1,24	50,16±0,64
BHT	-	-	65,66±1,03	74,91±1,35	81,33±1,49	84,13±0,98	89,30±1,95

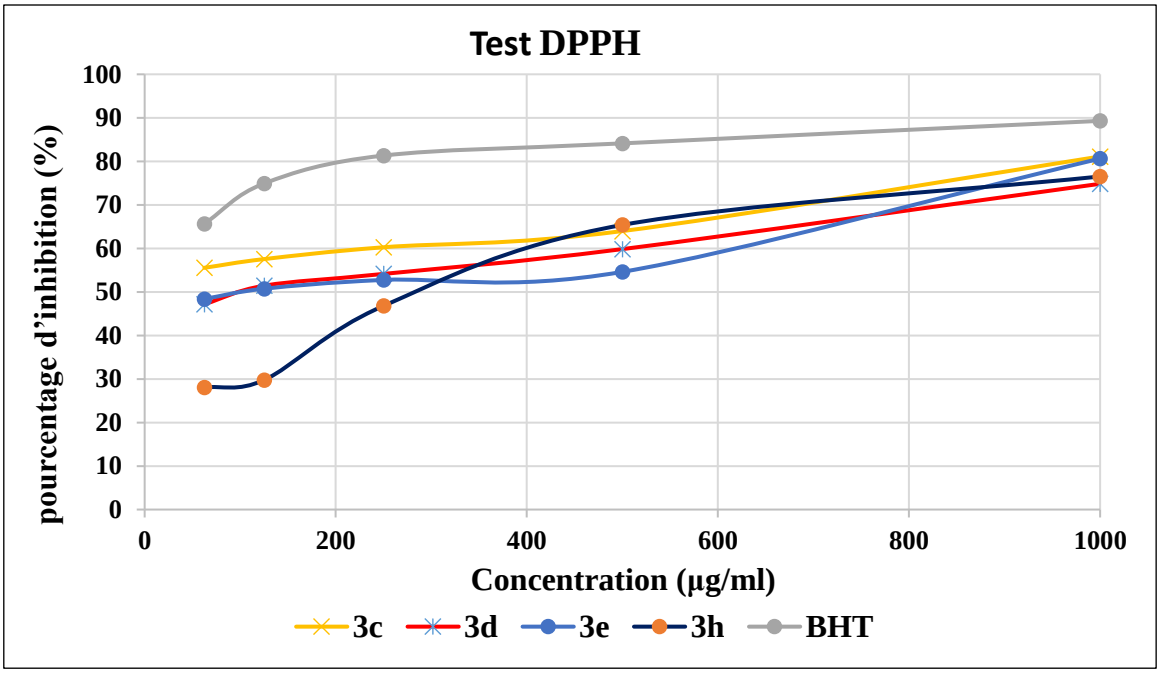


Figure II. 10. Pourcentages de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées des spiropyrazolines **3c**, **3d**, **3e** et **3h**

IV.1.4.2. Test FRAP

L'activité antioxydante des composés spiraniques **3(a-i)** a été également évaluée à l'aide du test FRAP en utilisant de l'hydroxyltoluène butylé (BHT) comme antioxydant standard. Ce test a été utilisé pour déterminer la capacité des composés cibles **3(a-i)** à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+}.

Les résultats du dépistage préliminaire sont rassemblés dans le *tableau II.3*. Globalement, les résultats obtenus révèlent que les spiropyrazoline oxindoles possèdent une capacité de réduction des ions ferriques Fe^{3+} avec un pouvoir réducteur qui augmente en fonction de la concentration testée. Résultat similaire à celui observé dans le piégeage des radicaux DPPH par les spiropyrazoline oxindoles.

Parmi les composés testés, les composés **3c**, **3d** et **3e** portants des substituants donneurs d'électrons dans les cycles aromatiques montrent un pouvoir réducteur ferrique remarquable en comparaison avec le contrôle positif BHT à la concentration maximale testée de 1 mg/ml. Le même résultat de réduction est obtenu avec le composé non substitué **3a** (*figure II.11*). Cependant, les autres composés ayant des substituants attracteurs d'électrons montrent un pouvoir réducteur plus faible.

Tableau II. 3. Pouvoir réducteur des spiropyrazoline oxindoles **3(a-i)** et l'antioxydant standard (BHT)

Absorbance moyenne ± (D.S.)* à différentes concentrations						
Composés			Concentrations en µg/ml			
N°	R	R_1	125	250	500	1000
3a	-	-	**0,146 ± 0,003**	**0,204 ± 0,012**	**0,298 ± 0,018**	**0,647 ± 0,022**
3b	-	Cl	0,119 ± 0,018	0,160 ± 0,006	0,274 ± 0,023	0,406 ± 0,045
3c	OCH_3	-	**0,157 ± 0,013**	**0,284 ± 0,014**	**0,472 ± 0,033**	**0,781 ± 0,063**
3d	OCH_3	Cl	**0,143 ± 0,033**	**0,197 ± 0,033**	**0,314 ± 0,009**	**0,683 ± 0,032**
3e	CH_3	-	**0,138 ± 0,008**	**0,175 ± 0,012**	**0,308 ± 0,023**	**0,579 ± 0,075**
3f	Cl	-	0,120 ± 0,027	0,152 ± 0,007	0,261 ± 0,010	0,382 ± 0,011
3g	Cl	Cl	0,117 ± 0,015	0,160 ± 0,011	0,251 ± 0,055	0,302 ± 0,043
3h	Br	-	0,124 ± 0,045	0,169 ± 0,044	0,298 ± 0,062	0,493 ± 0,042
3i	Br	Cl	0,114 ± 0,036	0,192 ± 0,032	0,301 ± 0,036	0,396 ± 0,071
BHT	-	-	0,203 ± 0,017	0,323 ± 0,026	0,702 ± 0,056	1,161 ± 0,016

*Les données sont présentées sous forme de moyennes ± les déviations standards de trois mesures.

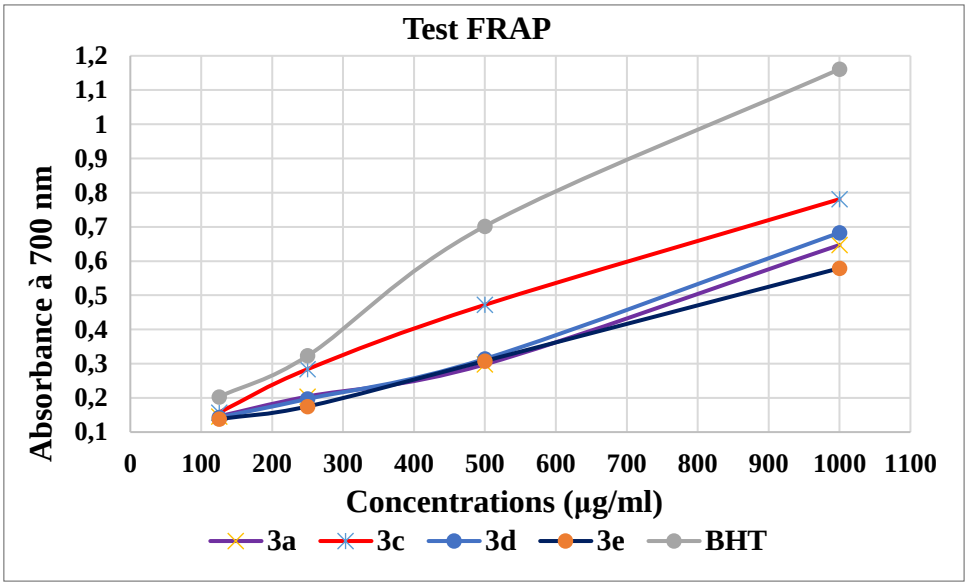


Figure II.11. Capacité antioxydante réductrice en fonction des différentes concentrations utilisées des spiropyrazolines **3a**, **3c**, **3d** et **3e**

IV.2. Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne

Les micro-organismes tels que les bactéries et les champignons sont à la base de plusieurs infections microbiennes graves, qui menacent le bien être des vivants, voire même provoquer

une crise sanitaire à grande échelle [88,89]. La lutte contre les infections bactériennes et fongiques s'impose comme une problématique sérieuse et permanente pour la communauté scientifique mondiale vue la résistance développée par les micro-organismes suite aux modifications de leurs génomes via des mutations aléatoires. De plus, l'utilisation répandue et exagérée des médicaments antimicrobiens existants est également responsable du développement des microbes résistants aux antimicrobiens [90,91]. Cette multi-résistance aux médicaments développée entraine un risque majeur et un taux élevé de morbidité et de mortalité. Ceci exige la découverte des thérapies plus efficaces et de nouveaux médicaments antimicrobiens puissants ayant un large spectre d'action contre les micro-organismes. C'est pourquoi de nombreuses études ont été consacrées à la recherche de nouveaux produits antibactériens et antifongiques.

Dans la recherche de nouvelles entités médicamenteuses ayant une action substantielle contre les maladies précitées, les spiro-hétérocycles constituent une catégorie importante des composés dotés d'un fort potentiel d'activité biologique, y compris des propriétés antibactérienne et antifongique [5,7,10–13]. En raison de leurs applications multivariées dans divers domaines, les composés spiraniques sont considérés comme des sources très intéressantes et précieuses pour le développement de nouveaux composés dotés de propriétés pharmacologiques. Ils continuent toujours d'attirer l'intention des chercheurs en raison de leurs remarquables caractéristiques structurelle et électronique. Ceci nous a incité à étudier la sensibilité antimicrobienne *in vitro* de certains composés spiraniques synthétisés vis-à-vis de quelques microbes pathogènes.

IV.2.1. Méthodologies utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne

Une étude approfondie des données de la littérature permet de relever une diversité de protocoles utilisés pour mettre en évidence le caractère antimicrobien des substances [92]. Cette variété de méthodes trouve son explication dans l'insolubilité de certains composés organiques dans l'eau et dans les milieux de culture d'une manière générale qui peuvent être choisis en tenant compte de la souche microbienne et des composés testés.

Les protocoles sont classifiés en considérant le milieu dans lequel la diffusion des composés est effectuée et la nature du contact des composés avec le germe. Trois types de protocoles différents sont utilisés : la diffusion en disque, la dilution en gélose et la dilution en bouillon [92–94]. Ces méthodes sont rapides, peu coûteuses et ne nécessitent pas d'équipement sophistiqué. Nous donnons par la suite une brève généralité sur les deux techniques que nous avons utilisés pour examiner l'effet antimicrobien de nos produits.

IV.2.1.1. Méthode de diffusion par la technique des disques

C'est une méthode qui se base sur une technique appelée antibiogramme ou méthode de disque [95,96]. Elle est fréquemment utilisée en bactériologie pour déterminer la sensibilité microbienne aux antibiotiques. Des disques de papier filtre ou de papier Wattman contenant des concentrations connues des substances à tester sont placés sur la surface de la gélose qui a été préalablement inoculée avec les bactéries visées. La sensibilité microbienne est évaluée en mesurant la zone autour du disque qui est exempte de la croissance microbienne. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus le micro-organisme est sensible au produit testé. Cependant, si le produit n'inhibe pas la croissance du germe cela signifie que la souche est résistante. Cette méthode fourni une bonne estimation sur le pouvoir antimicrobien des composés examinés. La *figure II.12* ci-dessous illustre la méthode.

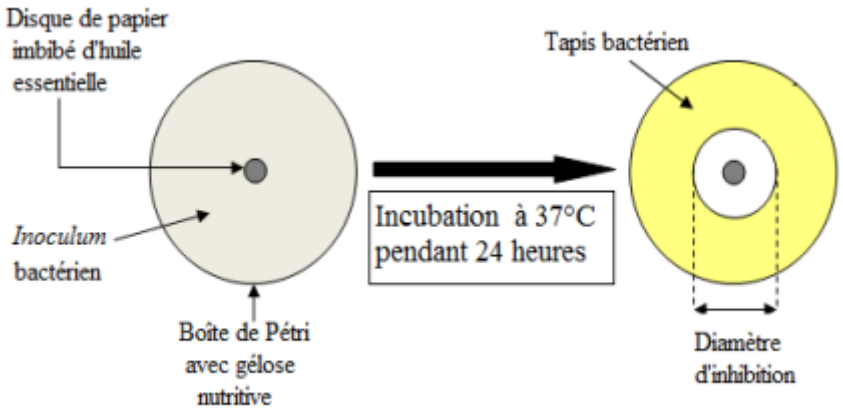


Figure II.12. Illustration de la méthode de diffusion en milieu gélosé sur boîte Pétri.

IV.2.1.2. Méthode de dilution en milieu liquide

La dilution en bouillon est une méthode utilisée pour tester la sensibilité des micro-organismes aux antibiotiques [92,97]. Cette méthode est basée sur la préparation d'un milieu de bouillon liquide contenant diverses concentrations d'agents antimicrobiens dans des plaques de microdilution à 96 puits ou bien des tubes, dans lesquelles un inoculum défini de l'organisme à tester est ensemencé, puis incubé. Ce test permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour un antimicrobien qui a stoppé la croissance des microorganismes (*figure II.13*). Parmi les avantages de cette méthode est la précision et le fait d'être considérée comme un indicateur fiable de la mesure de l'activité antibactérienne et antifongique. Elle permet aussi de confirmer les résultats des tests de la diffusion sur disque. Dans la pratique, la disponibilité des plaques dans le commerce, la facilité d'analyse et de stockage des plaques.

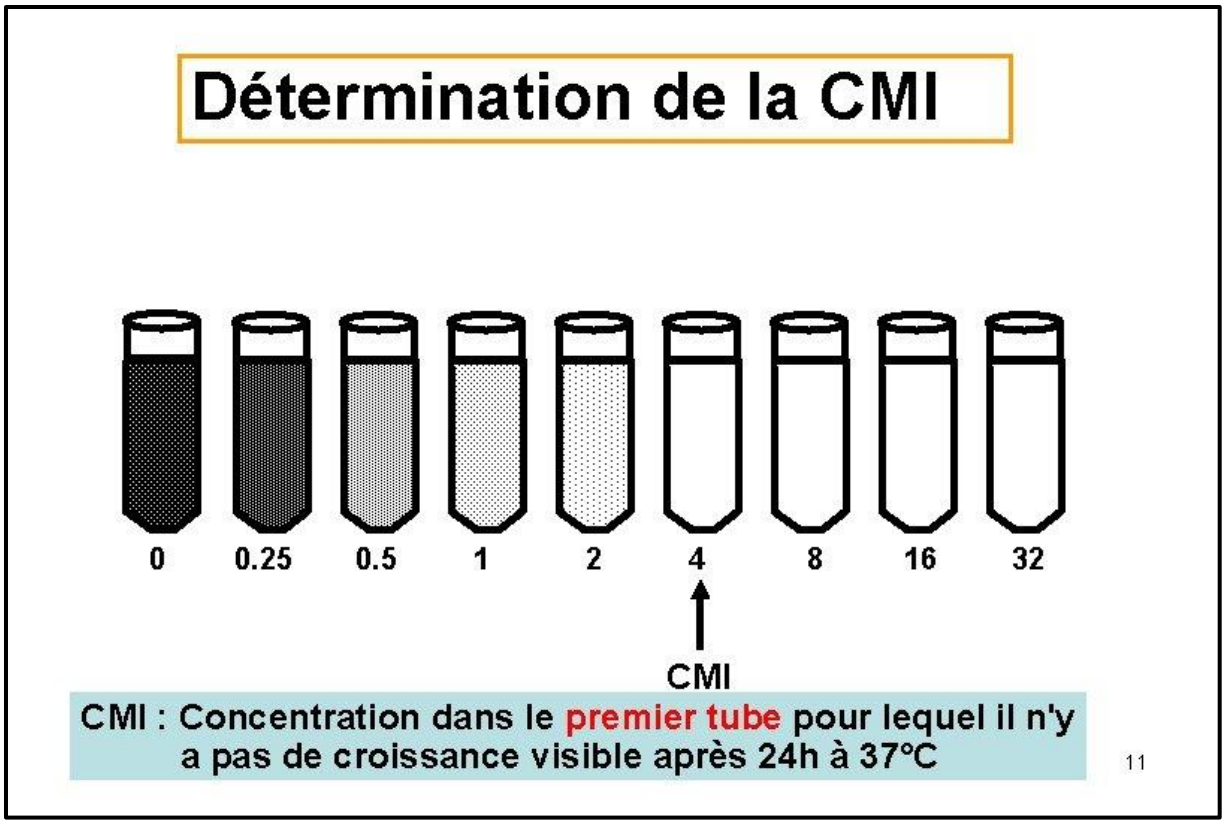


Figure II.13

IV.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des spiropyrazoline oxindoles synthétisés

L'activité antimicrobienne *in vitro* des composés cibles a été évaluée contre quatre micro-organismes pathogènes, à savoir deux bactéries Gram positif *Staphylococcus aureus* (S. A.) (CECT 976) et *Bacillus subtilis* (B. S.) (DSM 6633), une souche bactérienne Gram négatif, *Escherichia coli* (K12) (E. C.) et une levure *Candida albicans* (C. A.) (ATCC 10231), en utilisant la technique standard de diffusion sur gélose et de dilution en bouillon conformément aux directives de l'Institut des normes cliniques et de laboratoire (*Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)) [98,99] et aux méthodes rapportées dans la littérature avec une légère modification [100,101]. La Streptomycine et l'Ampicilline ont été utilisées comme témoins positifs pour l'activité antibactérienne, et le Fluconazole pour l'activité antifongique. Les structures de tous les composés spiraniques testés sont données dans la *Figure II.14*.

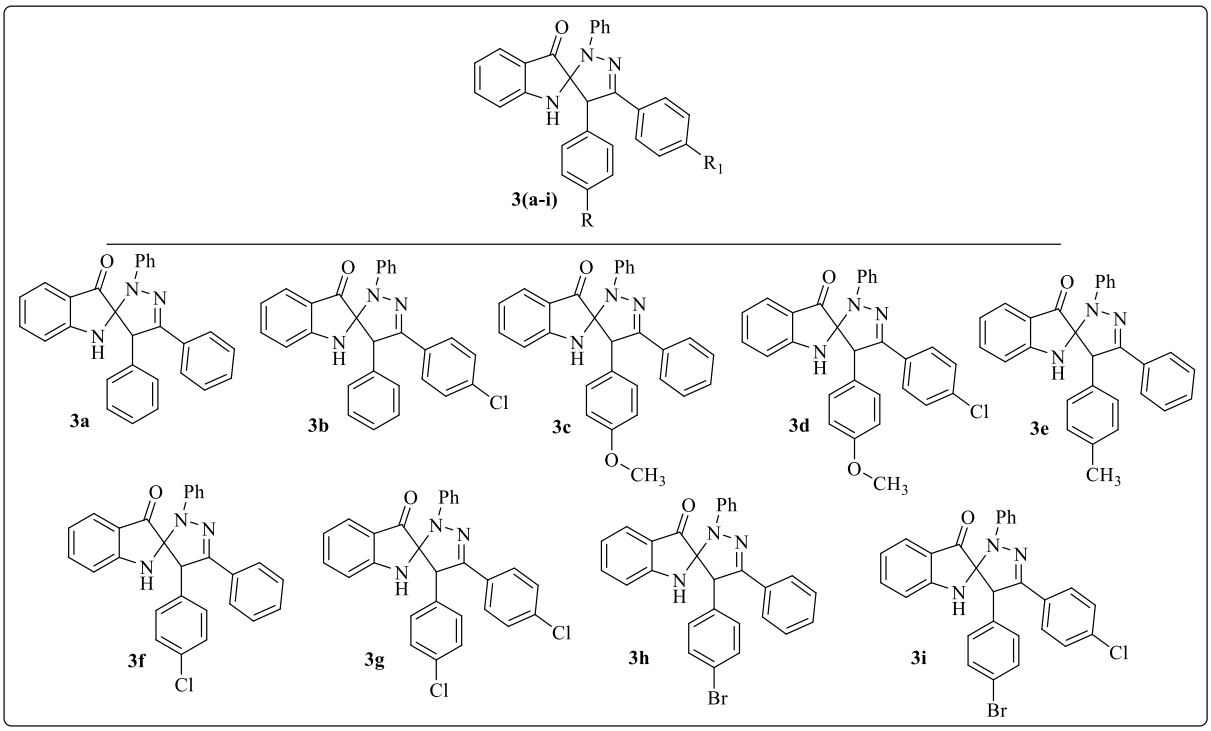


Figure II. 14. Structure des produits testés **3(a-i)**

IV.2.2.1. Méthode de diffusion sur disque

Les résultats préliminaires du dépistage antimicrobien des dérivés spiropyrazolines oxindoles **3(a-i)** ont été rassemblés dans le *tableau II.4*. Dans ce tableau nous avons donné la concentration la plus faible qui inhibe complètement la croissance des micro-organismes pour chaque composé et le diamètre de la zone d'inhibition (mm) mesuré pour cette concentration. Les résultats obtenus montrent que les dérivés spiropyrazoline oxindoles présentent une activité antimicrobienne variable vis-à-vis des microbes testés. L'activité inhibitrice des composés cibles dépend d'une manière significative de la nature des substituants R (H, Br, Cl, OCH_3, CH_3) et R_1 (H, Cl) sur les cycles phényles, ce qui est cohérent avec d'autres travaux de la littérature [100]. Le composé non substitué **3a** (R = H, R_1 = H) présente une activité antimicrobienne modérée contre toutes les bactéries et une activité significative en comparaison avec le médicament standard contre la souche fongique *C. albicans* avec une zone d'inhibition de 15 mm à une concentration de 1,25 mg/ml. L'incorporation d'un atome de brome au niveau du substituant R entraine une légère augmentation de l'activité antifongique du composé **3h** contre *C. albicans* (16 mm, 1,25 mg/ml) (*figure II.16 et 17*), et un effet négatif sur l'activité contre les souches bactériennes Gram positif et Gram négatif [102]. Le composé **3i** qui porte deux halogènes (R = Br, R_1 = Cl) présente une activité antimicrobienne contre tous les organismes testés à une concentration de 1,25 mg/ml, avec une puissante activité antibactérienne contre la souche bactérienne Gram-négatif *E. coli* (21 mm) contre (24 mm)

pour le témoin Streptomycine (*figure II.15*). Ce résultat montre que les halogènes exercent un effet notable sur l'activité des composés spiraniques étudiés, ce qui est en bon accord avec la littérature [100]. Une amélioration importante et remarquable dans l'activité du composé **3d** (R = OCH_3, R_1 = Cl) contre la souche pathogène *E. coli* (23 mm, 1,25 mg/ml) avec un meilleur pourcentage d'indice d'activité de 95% en comparaison avec les autres composés, par rapport au contrôle positif, la streptomycine, avec une zone d'inhibition moyenne de 24 mm (*figure II.15*). Cela montre clairement l'effet positif du chlore au niveau de substituant R_1 sur l'activité antibactérienne contre la bactérie à Gram négatif. Le composé **3g** (R = Cl, R_1 = Cl) qui porte deux atomes de chlore dans les cycles phényles est le plus actif par rapport aux autres composés contre *B. subtilis* avec une zone d'inhibition (14 mm, 1,25 mg/ml) et une inhibition de 87% en comparaison avec le médicament standard Ampicilline (16 mm). Le composé **3e** (R = CH_3, R_1 = H) révèle un effet inhibiteur significatif par rapport aux contrôles positifs contre *C. albicans* avec un diamètre de zone d'inhibition de 15,5 mm (*figure II.16* et 17) et contre *B. subtilis* avec une zone d'inhibition de 13 mm à une concentration de 1,25 mg/ml. Les autres composés spiraniques montrent une activité antimicrobienne faible ou médiocre contre les microorganismes testés.

Tableau II. 4. Résultats des tests *in vitro* de l'activité antimicrobienne

			Zone d'inhibition en mm (C [a] en mg/ml)							
N°	**R**	**R_1**	***E. coli***	**IA (%)**	***B. subtilis***	**IA (%)**	***C. albicans***	**IA (%)**	***S. aureus***	**IA (%)**
3a	-	-	12,5 (2,25)	52	10 (5)	62	**15 (1,25)**	**71**	11 (1,25)	47
3b	-	Cl	12 (1,25)	50	7 (1,25)	43	NE	---	9 (1,25)	39
3c	OCH_3	-	NE	---	NE	---	10 (1,25)	47	9 (2,25)	39
3d	OCH_3	Cl	**23 (1,25)**	**95**	7,5 (1,25)	46	10,5 (2,25)	50	10,2 (1,25)	44
3e	CH_3	-	-	---	**13 (1,25)**	**81**	**15,3 (1,25)**	**72**	10 (5)	43
3f	Cl	-	7 (1,25)	29	NE	---	13 (1,25)	61	11 (2,25)	47
3g	Cl	Cl	NE	---	**14 (1,25)**	**87**	NE		7 (1,25)	30
3h	Br	-	10 (2,25)	41	NE	---	**16 (1,25)**	76	10 (2,25)	43
3i	Br	Cl	**21 (1,25)**	**87**	**11 (1,25)**	**68**	**13 (1,25)**	**61**	**12 (1,25)**	**52**
Ampicilline			NT	---	16	100	NT	---	23	100
Fluconazole			NT	---	NT	---	21	---	NT	---
Streptomycine			24	100	NT	---	NT	---	NT	---

DMF	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---
Disque de papier filtre	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---	6 (AZI)	---

AZI : aucune zone d'inhibition, le diamètre du disque de papier filtre est de 6 mm, NT : non testé, EN : Ce composé n'a aucun effet ou un effet négligeable sur cette souche, IA : Indice d'activité

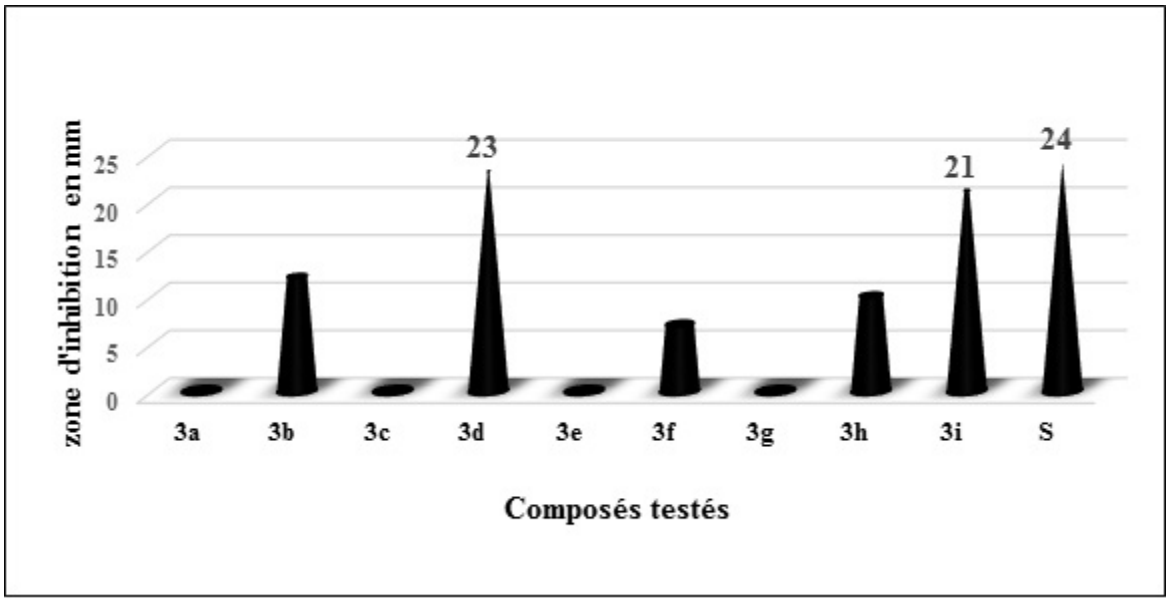


Figure II.15. Activité des composés testés (**3a-i**) et la Streptomycine (S) contre la souche *Escherichia coli*

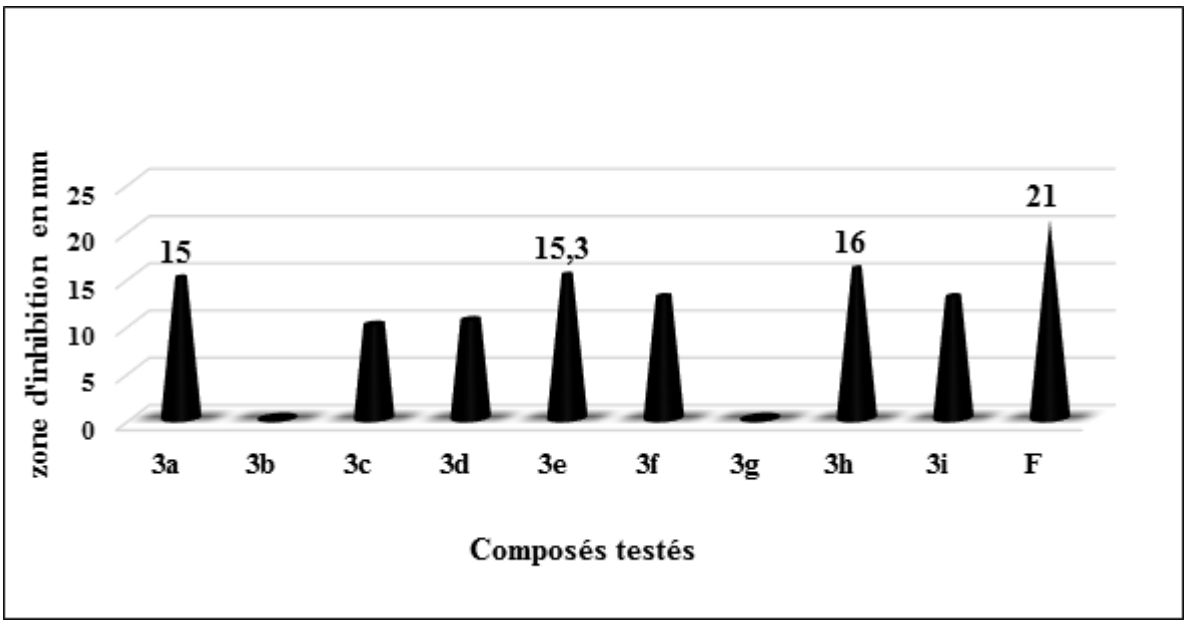


Figure II. 16. Activité des composés testés (**3a-i**) et la Fluconazole (F) contre la souche *Candida albicans*

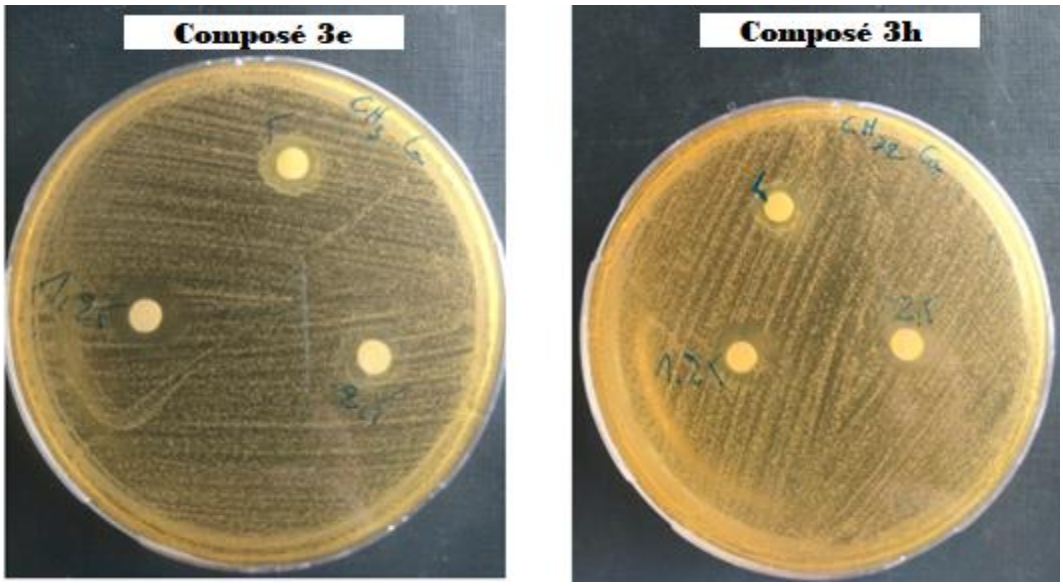


Figure II. 17. Images indiquant les zones d'inhibition contre la souche *Candida albicans* pour les composés **3e** et **3h**.

IV.2.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour corroborer les résultats obtenus par la méthode de la diffusion sur disque, les spiropyrazoline oxindoles testés ont été en outre soumis à une analyse plus poussée pour déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices (CMIs) en utilisant la méthode de dilution en bouillon. Selon les résultats présentés dans le *tableau II.5*, les composés présentent une activité antibactérienne et antifongique contre les micro-organismes pathogènes testés même à des concentrations faibles. Parmi tous les congénères examinés, les composés **3e** (R = CH_3, R_1 = H), **3h** (R = Br, R_1 = H) ont montré une activité inhibitrice contre *C. albicans* à une valeur de CMI de 0.156 mg/ml. De même, le composé **3i** (R = Br, R_1 = Cl) présente les valeurs les plus faibles de CMI de 0,117 mg/ml et 0,312 mg/ml contre les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, respectivement. De plus, le composé **3d** (R = OCH_3, R_1 = Cl) montre une efficacité conte la bactérie à Gram négatif *E. coli* à une valeur de CMI de 0,156 mg/ml et le composé **3e** (R = CH_3, R_1 = H) présente la valeur la plus faible de CMI contre *B. subtilis* (0,312 mg/ml).

Tableau II.5. Valeurs de CMI des spiropyrazolines testés

Composés			Concentration minimale inhibitrice (CMI) (mg/ml)			
N°	**R**	**R_1**	***E. coli***	***B. subtilis***	***C. albicans***	***S. aureus***
3a	-	-	1,25	0,703	**0,312**	0,781
3b	-	Cl	0,937	0,937	-	0,937
3c	OCH_3	-	-	-	0,781	1,25
3d	OCH_3	Cl	**0,156**	0,937	0,781	0,625
3e	CH_3	-	-	**0,312**	**0,156**	2,5
3f	Cl	-	0,312	-	0,625	2
3g	Cl	Cl	-	0,390	-	1,25
3h	Br	-	0,625	-	**0,156**	1,875
3i	Br	Cl	**0,117**	0,625	0,312	**0,312**
Ampicilline			-	0.0781	-	0.039
Fluconazole			-	-	0.0156	-
Streptomycine			0.0781	-	-	-

V. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit la synthèse des spiropyrazoline oxindoles via la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des nitrilimines avec quelques dérivés de l'aza-aurone. Ces derniers sont obtenus d'une manière hautement régiosélective et leur structure a été élucidée par les méthodes spectroscopiques usuelles Infrarouge, RMN du proton, du carbone 13 et par analyse élémentaire. De plus, nous avons examiné la capacité antioxydante et l'activité antimicrobienne *in vitro* des spiropyrazoline oxindoles synthétisés. Les résultats de l'évaluation préliminaire indiquent que les spiropyrazoline oxindoles étudiés ont un effet antimicrobien modeste à excellent sur la croissance des microbes testés par comparaison aux contrôles positifs. De plus, les résultats obtenus suggèrent que les substituants portés par les cycles phényles ont une influence sur l'activité des composés testés. En outre, les composés spiraniques montrent une activité antioxydante variable, avec un effet de piégeage qui augmente en fonction de la concentration utilisée. Les composés **3c**, **3d** et **3e** montrent en particulier une activité antioxydante remarquable, due à l'effet positif des substituants donneurs d'électrons (CH_3 et OCH_3) sur l'activité antioxydante.

Partie expérimentale

a) Synthèse des précurseurs des diarylnitrilimines

Préparation des *β*-aroylphénylhydrazines

Une solution de 0,2 mole de phénylhydrazine fraîchement distillée dans 100 ml de pyridine sèche est introduite dans un ballon de 250 ml équipé d'un agitateur magnétique. Durant 30 min, 0,1 mole de chlorure d'aroyle est ajouté goutte à goutte. Une agitation assez forte est maintenue pendant l'addition. Ensuite, l'agitation est maintenue pendant 20 min. Puis la solution est versée dans un litre d'eau et agitée pendant une heure pour précipiter la β-aroylphénylhydrazine. Le précipité est filtré et lavé à l'eau pour éliminer la pyridine. Le produit est séché et recristallisé dans l'éthanol [103].

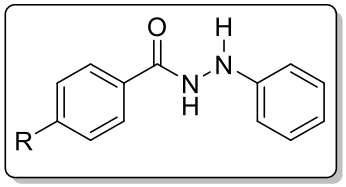


Figure II.18

Synthèse de *α*-chloroarylidènephénylhydrazone

Dans un ballon de 500 ml à 3 tubulures muni d'un agitateur magnétique et d'un réfrigérant surmonté d'un tube à $CaCl_2$, on prépare un mélange homogène de 0,1 mole de β-aroylphénylhydrazine sous forme de poudre et 0,15 mole de PCl_5 finement divisé. Ensuite, 150 ml d'éther éthylique anhydre sont ajoutés. Le mélange est porté à léger reflux sous agitation pendant une douzaine d'heures. Le mélange est refroidi avant d'ajouter une solution de 30 g de phénol dans 50 ml d'éther éthylique. Puis, l'excès de l'éther éthylique est chassé sous pression réduite. On ajoute lentement et avec beaucoup de précautions 50 ml de méthanol. Le mélange réactionnel est ensuite abandonné pendant toute une nuit au réfrigérateur. Le solide formé est filtré et lavé avec du méthanol pour enlever en partie l'acide chlorhydrique formé lors de la réaction et le produit est recristallisé dans l'éthanol [103].

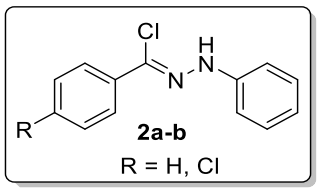


Figure II.19

b) Synthèse des spiropyrazoline oxindoles 3(a-i)

Dans un ballon de 100 ml, on dissout 1 mole du composé **2** et 1,2 mole du α-chloroarylidène-phényl-hydrazone dans 40 ml du chloroforme. Puis on ajoute 1,2 mole de triéthylamine anhydre. L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. Une fois la réaction est terminée, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est repris dans de l'éthanol. Le précipité obtenu est filtré puis lavé avec de l'éthanol froid.

2',4',5'-triphenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3a) **:** Rdt (90 %); P.f.: 220-222 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3346 (N-H), 1701 (C=O), 1592 (C=N), 1485 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 4.48 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 5.04 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.48 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.1 Hz), 6.85-6.95 (m, 2H, H_{ar}), 7.03 (dd, 2H, H_{ar}, *J* = 3.9 Hz, *J* = 7.5 Hz), 7.12-7.21 (m, 4H, H_{ar}), 7.26-7.30 (m, 6H, H_{ar}), 7.42 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.60 (dd, 2H, H_{ar}, *J* = 2.1 Hz, *J* = 6.0 Hz), 7.71 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 7.5 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 60.89 (C_4), 87.14 ($C_{5,2'}$), 112.41, 114.93, 119.57, 120.32, 121.09, 125.12, 126.65, 128.35, 128.55, 128.61, 128.87, 129.03, 129.37, 131.62, 133.31, 138.36, 142.73, 147.50, 158.33 (C=N), 199.38(C=O). Anal. calculée pour $C_{28}H_{21}N_3O$ (415,16846) : C, 80.94; H, 5.09; N, 10.11% ; trouvée : C, 79.61; H, 5.23; N, 9.97%.

5'-(4-chlorophenyl)-2',4'-diphenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3b) **:** Rdt (78 %); P.f.: 190-192 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3349 (N-H), 1703 (C=O), 1593 (C=N), 1483 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, DMSO- *d_6*) (*δ*/ppm): 5.18 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.52 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8,4 Hz), 6.72 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 7.2 Hz), 6.84 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 7.2 Hz), 6.98 (dd, 2H, H_{ar}, *J* = 0.9 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.07 (dd, 2H, H_{ar}, *J* = 2.1 Hz, *J* = 6.0 Hz), 7.14-7.23 (m, 5H, H_{ar}), 7.35-7.40 (m, 3H, H_{ar}), 7.48-7.54 (m, 3H, H_{ar}), 7.68 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, DMSO- *d_6*) (*δ*/ppm): 61.00 (C_4), 87.74 ($C_{5,2'}$), 111.97, 115.02, 117.83, 118.72, 121.30, 124.65, 128.35, 128.62, 128.94, 129.00, 129.48, 129.99, 130.72, 133.35, 133.71, 139.32, 142.98, 148.58, 159.56 (C=N), 200.13 (C=O).

4'-(4-methoxyphenyl)-2',5'-diphenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3c) **:** Rdt (88 %); P.f.: 212-214 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3345 (N-H), 1703 (C=O), 1591 (C=N), 1485 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 3.77 (s, 3H, OCH_3), 4.52 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 4.98 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.54 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 6.78-6.95 (m, 6H, H_{ar}), 7.11-7.20 (m, 4H, H_{ar}), 7.24-7.28 (m, 2H, H_{ar}), 7.40-7.46 (m, 2H, H_{ar}), 7.58-7.70 (m, 3H, H_{ar}); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 55.26 ($O\underline{C}H_3$), 60.17 (C_4), 87.22 ($C_{5,2'}$), 112.60, 114.82, 119.67, 120.34, 120.99, 125.05, 125.09, 126.63, 126.87, 128.03, 128.32, 128.91, 129.01, 130.04, 130.19, 131.70, 138.31, 142.83, 147.76, 158.42

(C=N),159.53 (C-O-CH_3), 199.52 (C=O). Anal. calculée pour $C_{29}H_{23}N_3O_2$ (445,17903) : C, 78.18; H, 5.20; N, 9.43 % ; trouvée : C, 78.50; H, 5.17; N, 9.63%.

5'-(4-chlorophenyl)-4'-(4-methoxyphenyl)-2'-phenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3d) **:** Rdt (67 %); P.f.: 192-194 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3370 (N-H), 1703 (C=O), 1595 (C=N), 1485 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.70 (s, 3H, OCH_3), 4.41 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 4.86 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.46 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.4Hz), 6.72-6.88 (m, 6H, H_{ar}), 7.03-7.2 (m, 7H, H_{ar}), 7.33-7.42 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 8.1 Hz), 7.43-7.46 (dd, 2H, H_{ar}, *J* = 2.1 Hz, *J* = 6.9 Hz), 7.60-7.63 (dd, 1H, H_{ar}, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.19 (O$\underline{C}H_3$), 59.93 (C_4), 87.18 ($C_{5,2'}$), 112.59, 114.75, 114.90, 119.52, 120.32, 121.15, 124.71, 125.03, 127.70, 128.50, 128.94, 129.92, 130.20, 134.23, 138.26, 142.55, 146.53, 158.31 (C=N), 159.69 (C-O-CH_3), 199.22 (C=O). Anal. calculée pour $C_{29}H_{22}ClN_3O_2$ (479,14005) : C, 72.57; H, 4.62; N, 8.76% ; trouvée : C, 72.30; H, 4.65; N, 8.72%.

2',5'-diphenyl-4'-(p-tolyl)-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3e)**:** Rdt (80%); P.f.: 192-194 °C; **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.31 (s, 3H, CH_3), 4.47 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 4.99 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.53 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.1 Hz), 6.85-6.95 (m, 4H, H_{ar}), 7,07-7.20 (m, 5H, H_{ar}), 7,25-7.28 (m, 4H, H_{ar}), 7.43 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 11.4 Hz), 7.60 (dt, 2H, H_{ar}, *J* = 4.2 Hz, *J* = 7.8 Hz), 7.70 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 7.5 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.17 ($\underline{C}H_3$), 60.42 (C_4), 87.16 ($C_{5,2'}$), 112.52, 114.96, 119.68, 120.28, 121.01, 125.08, 126.63, 128.29, 128.52, 128.72, 130.07, 130.21, 131.75, 138.21, 138.37, 142.88, 147.73, 158.43 (C=N), 199.42 (C=O). Anal. calculée pour $C_{29}H_{23}N_3O$ (429,18411) : C, 81.09; H, 5.40; N, 9.78% ; trouvée : C, 80.97; H, 5.41; N, 9.97%.

4'-(4-chlorophenyl)-2',5'-diphenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3f)**:** Rdt (80%); P.f.: 198-200 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}) : 3351 (N-H), 1708 (C=O), 1591 (C=N), 1490 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 4.55 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 5.02 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.54 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.1 Hz), 6.88-7.01 (m, 4H, H_{ar}), 7,10-7.30 (m, 9H, H_{ar}), 7.44 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 7.2 Hz), 7.54-7.57 (m, 2H, H_{ar}), 7.68 (dt, 1H, H_{ar}, *J* = 0.6 Hz, *J* = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 60.30 (C_4), 87.09 ($C_{5,2'}$), 112.29, 115.13, 119.37, 120.36, 121.34, 125.12, 126.61, 128.43, 128.78, 129.05, 129.52, 130.28, 131.33, 131.99, 134.44, 138.58, 142.59, 147.27, 158.11 (C=N),199.16 (C=O). Anal. calculée pour $C_{28}H_{20}ClN_3O$ (449,12949) : C, 74.75; H, 4.48; N, 9.34% ; trouvée : C, 74.79; H, 4.46; N, 9.77%.

***4',5'-bis(4-chlorophenyl)-2'-phenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3g)*:** Rdt (70 %); P.f.: 216-218 °C. **IR** (ν, cm^{-1}) : 3340 (N-H), 1710 (C=O), 1590 (C=N), 1480 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm**) :** 4.51 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 4.97 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.54 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 6.87-6.96 (m, 4H, H_{ar}), 7.09-7.21 (m, 4H, H_{ar}), 7.24-7.28 (m, 4H, H_{ar}), 7.42-7.49 (m, 3H, H_{ar}), 7.69 (d, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 60.08 (C_4), 87.12 ($C_{5,2'}$), 112.29, 115.20, 119.28, 120.49, 121.57, 125.18, 127.73, 128.72, 129.09, 129.64, 129.87, 130.21, 131.58, 134.58, 134.66, 138.66, 142.37, 146.13, 158.08 (C=N), 198.98 (C=O).

***4'-(4-bromophenyl)-2',5'-diphenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3h)*:** Rdt (89 %); P.f.: 190-192 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3373 (N-H), 1710 (C=O), 1594 (C=N), 1485 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 4.51 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 5.00 (s, 1H, H_4, benzylique), 6.55 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 6.87-6.95 (m, 4H, H_{ar}), 7.11-7.21 (m, 4H, H_{ar}), 7.27-7.3 (m, 3H, H_{ar}), 7.39-7.48 (m, 3H, H_{ar}), 7.54-7.57 (m, 2H, H_{ar}), 7.69 (dt, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 60.31 (C_4), 87.03 ($C_{5,2'}$), 112.29, 115.17, 119.38, 120.39, 121.37, 122.60, 125.14, 126.60, 128.44, 128.78, 129.05, 130.58, 131.32, 132.44, 132.58, 138.58, 142.59, 147.25, 158.08 (C=N),199.12 (C=O).

***4'-(4-bromophenyl)-5'-(4-chlorophenyl)-2'-phenyl-2',4'-dihydrospiro[indoline-2,3'-pyrazol]-3-one (3i)*:** Rdt (73 %); P.f.: 212-214 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3353 (N-H), 1706 (C=O), 1593 (C=N), 1482 (C=C); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 4.51 (s, 1H, NH, échangeable avec D_2O), 4.96 (s, 1H, H_4, pyrazolinique), 6.55 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 6.88-6.96 (m, 4H, H_{ar}), 7.09-7.28 (m, 7H, H_{ar}), 7.40-7.50 (m, 5H, H_{ar}), 7.69 (d, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 60.32 (C_4), 87.05 ($C_{5,2'}$), 112.22, 115.18, 119.24, 120.51, 121.58, 122.82, 125.20, 127.73, 128.73, 129.10, 129.84, 130.51, 132.09, 132.61, 134.69, 138.70, 142.35, 146.08, 158.08 (C=N),198.99 (C=O).

c) *Méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante*

Test DPPH

Pour évaluer le potentiel antioxydant des produits synthétisés, nous avons utilisé le test de DPPH en adoptant les protocoles décrits dans la littérature [83,104,105]. Une solution méthanolique fraîche de DPPH (0,004%) a été préparée et conservée à température ambiante dans l'obscurité. Différentes concentrations de composés étudiés et le butylhydroxy toluène (BHT : contrôle positif) ont été préparées et quelques-unes ont été sélectionnées pour une bonne comparaison (62.5, 125, 250, 500 et 1000 µg/ml). Puis, 100 µl de diverses concentrations ont été mélangés avec 750 µl d'une solution méthanolique de DPPH et agitées.

Après 30 min d'incubation dans une chambre noire, la décoloration a été enregistrée à 517 nm. L'absorbance de la solution du DPPH sans échantillon utilisé comme témoin, et du méthanol à 95% utilisé comme blanc a été mesurée. Ensuite, les absorbances du mélange réactionnel enregistrées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Jasco V-530) ont été comparées à celles du témoin et blanc. L'activité antioxydante a été calculée et exprimée en pourcentage d'inhibition (%) de DPPH·, ce dernier a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$PI\ (\%) = (A_0\text{-}A/A_0)*100$$

- PI : Pourcentage d'inhibition.
- A0 : Absorbance de la solution du DPPH · sans échantillon (contrôle négatif).
- A : Absorbance de la solution du DPPH · en présence de l'échantillon

Test du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des composés synthétisés a été déterminé selon les procédés rapportées avec quelques modifications [84,104,105]. Des solutions de 500 µl de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6), 500 µl de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à 1% et 100 µl des différentes concentrations des composés testés dans le méthanol ont été préparées et mélangées. Ces dernières ont été incubés dans un bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, le mélange a été acidifié par un volume de 500 µl d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique (TCA) à 10%. Puis, 500 µl d'eau distillée et 100 µl de 0,1% $FeCl_3$ ont été ajoutés au milieu réactionnel. L'antioxydant BHT a été utilisé comme standard. L'absorbance moyenne de chaque composé est calculée après trois tests. La capacité antioxydante réductrice est indiquée par l'observation de l'absorbance des composés testés à 700 nm

d) Protocoles générales utilisés dans les tests antimicrobiens

Préparation de l'inoculum

L'inoculum microbien a été obtenu en prélevant des colonies de la culture fraîche de 24 heures qui ont été collectées d'une manière aseptique et suspendues dans une solution saline stérile à 0,9 % [104,105]. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation de la densité optique à 0,5 Mc Farland est réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,1 nm ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 CFU/ml (Colonies Forming Units par ml) selon Mc Farland pour les suspensions bactériennes. Tandis que la suspension de levure contient environ 1 à 5 × 10^6 CFU/ml [104,105]. La norme

McFarland a été préparée en mélangeant l'acide sulfurique (H_2SO_4) avec le chlorure de baryum déshydraté ($BaCl_2$, $2H_2O$).

Méthode de disque

Les propriétés antimicrobiennes des composés synthétisés contre des microbes pathogènes ont été étudiés en utilisant la technique standard de diffusion sur disque, selon les procédures décrites dans la littérature [100,101,104,106]. Des solutions mères de composés étudiés ont été préparées dans 1 ml du solvant (diméthylsulfoxyde (DMSO) ou bien dans le diméthylformamide (DMF)) pour obtenir les concentrations nécessaires. Puis, 10 µL des composés à différentes concentrations préparées ont été ajoutés au disque de Papier Filtre Whatman (6 mm de diamètre) et séchés pendant 10 min. L'ampicilline et la streptomycine ont été utilisées comme agents antibactériens standards ; tandis que le Fluconazole a été utilisé comme agent antifongique standard. Le solvant seul a été utilisé comme témoin, et il n'a montré aucun effet sur la croissance des micro-organismes. Ensuite, les plaques ont été incubées à 37°C pour les bactéries et à 30°C pour les levures pendant 24h. Enfin, La zone moyenne d'inhibition autour du disque a été mesuré à l'aide d'une règle transparente. Le pourcentage d'indice d'activité pour les composés testés a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Indice d'activité (A)} = \frac{\text{zone d'inhibiton du composé (mm)}}{\text{zone d'inhibtion du médicament standard (mm)}} \times 100$$

Détermination de la CMI

La technique de microdilution a été réalisée dans des plaques à 96 puits en utilisant les méthodes décrites dans la littérature avec quelques modifications [107,108]. Cette dernière a été effectuée pour déterminer les CMIs des composés testés vis-à-vis les germes pathogènes testées. Pour les dosages antibactérien et antifongique, les dilutions des produits et des médicaments standards ont été préparées à partir d'une solution mère des composés testés dissous dans le DMF ou DMSO et diluées pour donner des dilutions en série de deux fois. Les suspensions microbiennes à 0,5 McFarland ont été aussi dilués dans le milieu de culture. Ensuite, 50 µL du milieu de culture ont été déposés dans chaque puits de la microplaque, à l'exception du premier puits (témoin négatif), et 100 µL de la substance à tester ont été déposés dans tous les puits à l'exception du dernier puits (témoin positif). Ensuite, des microdilutions ont été réalisées en transférant 50 µL du premier puits au second et ainsi de suite (dilution de la substance par un facteur ½ dans chaque puits). Enfin, l'inoculation a été réalisée en déposant 50 µl de la suspension microbienne dont la turbidité a été vérifiée dans

les puits. Enfin, les microplaques ont été incubée pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 30°C pour les levures, la croissance des microorganismes a été visualisé en ajoutant à chaque puit 20 µl de solution aqueuse de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC, 1 mg / ml), après incubation supplémentaire à des températures respectives pendant une heure ou plus. La CMI pour les bactéries et les champignons est désignée comme la concentration la plus faible qui ne produit pas de couleur rose. Les tests ont été réalisés en double et les valeurs moyennes ont été calculées.

Références bibliographiques

1. Zheng, Y.; Tice, C.M.; Singh, S.B. The Use of Spirocyclic Scaffolds in Drug Discovery. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3673–3682, doi:10.1016/j.bmcl.2014.06.081.
2. Chupakhin, E.; Babich, O.; Prosekov, A.; Asyakina, L.; Krasavin, M. Spirocyclic Motifs in Natural Products. *Molecules* **2019**, *24*, 4165, doi:10.3390/molecules24224165.
3. Ye, N.; Chen, H.; Wold, E.A.; Shi, P.; Zhou, J. Therapeutic Potential of Spirooxindoles as Antiviral Agents. *ACS Infect. Dis.* **2016**, *2*, 382–392, doi:10.1021/acsinfecdis.6b00041.
4. Yu, B.; Zheng, Y.; Shi, X.; Qi, P.; Liu, H. Natural Product-Derived Spirooxindole Fragments Serve as Privileged Substructures for Discovery of New Anticancer Agents. *Anticancer. Agents Med. Chem.* **2016**, *16*, 1315–1324, doi:10.2174/1871520615666151102093 8.
5. Dawood, K.M. Synthesis of Spiro-Pyrazole-3,3′-Thiopyrano[2,3-b]Pyridines and Azolo[a]Pyrido[2′,3′:5,6]Thiopyrano[3,4-d]Pyrimidines as New Ring Systems with Antifungal and Antibacterial Activities. *J. Heterocycl. Chem.* **2005**, *42*, 221–225, doi:10.1002/jhet.5570420207.
6. Rouatbi, F.; Mhiri, C.; Askri, M.; Knorr, M.; Rousselin, Y.; Kubicki, M.M. Regioselective Synthesis of Mono- and Dispiropyrazoline Derivatives via 1,3-Dipolar Cycloaddition with Nitrilimines. *J. Heterocycl. Chem.* **2017**, *54*, 1152–1160, doi:10.1002/jhet.2684.
7. Dalloul, H.M. Heterocyclic Synthesis Using Nitrilimines: Part 16. Synthesis of Some New Pyrazole and Spiropyrazoline Derivatives. *Chinese J. Chem.* **2011**, *29*, 751–756, doi:10.1002/cjoc.201190152.
8. Sadiq, Z.; Naz, S.; Hussain, E.A.; Aslam, U. Spiropyrazolines: A Worthy Insight into the Recent Strategies and Synthetic Applications. *Lett. Org. Chem.* **2019**, *16*, 357–391, doi:10.2174/1570178615666181022141147.
9. Farghaly, T.A.; Abbas, I.M.; Hassan, W.M.I.; Lotfy, M.S.; Al-Qurashi, N.T.; Ben Hadda, T. Structure Determination and Quantum Chemical Analysis of 1,3-Dipolar Cycloaddition of Nitrile Imines and New Dipolarophiles and POM Analyses of the Products as Potential Breast Cancer Inhibitors. *Russ. J. Org. Chem.* **2020**, *56*, 1258–1271, doi:10.1134/S1070428020070210.
10. Velikorodov, A. V.; Ionova, V.A.; Degtyarev, O. V.; Sukhenko, L.T. Synthesis and Antimicrobial and Antifungal Activity of Carbamate- Functionized Spiro Compounds. *Pharm. Chem. J.* **2013**, *46*, 715–719, doi:10.1007/s11094-013-0876-7.
11. Youssef, M.S.K.; Abeed, A.A.O. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel 2-Thienyl Substituted Heterocycles. *Heterocycl. Commun.* **2014**, *20*, 25–31, doi:10.1515/hc-2013-0197.
12. Yang, C.; Li, J.; Zhou, R.; Chen, X.; Gaoa, Y.; He, Z. Facile Synthesis of Spirooxindole-Pyrazolines and Spirobenzofuranone- Pyrazolines and Their Fungicidal Activity. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 4869–4878, doi:10.1039/C5OB00258C.
13. Raposo, L.R.; Silva, A.; Silva, D.; Roma-Rodrigues, C.; Espadinha, M.; Baptista, P. V.; Santos, M.M.M.; Fernandes, A.R. Exploiting the Antiproliferative Potential of Spiropyrazoline Oxindoles in a Human Ovarian Cancer Cell Line. *Bioorganic Med. Chem.* **2021**, *30*, 115880, doi:10.1016/j.bmc.2020.115880.
14. Gutti, G.; Kumar, D.; Paliwal, P.; Ganeshpurkar, A.; Lahre, K.; Kumar, A.; Krishnamurthy, S.; Singh, S.K. Development of Pyrazole and Spiropyrazoline Analogs as Multifunctional Agents for Treatment of Alzheimer's Disease. *Bioorg. Chem.* **2019**,

90, 103080, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103080.
15. Santos, M.M.M. Recent Advances in the Synthesis of Biologically Active Spirooxindoles. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 9735–9757, doi:10.1016/j.tet.2014.08.005.
16. Girgis, A.S.; Farag, H.; Ismail, N.S.M.; George, R.F. Synthesis, Hypnotic Properties and Molecular Modeling Studies of 1,2,7,9-Tetraaza-Spiro[4.5]Dec-2-Ene-6,8,10-Triones. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 4964–4969, doi:10.1016/j.ejmech.2011.07.058.
17. Monteiro, Â.; Gonçalves, L.M.; Santos, M.M.M. Synthesis of Novel Spiropyrazoline Oxindoles and Evaluation of Cytotoxicity in Cancer Cell Lines. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *79*, 266–272, doi:10.1016/j.ejmech.2014.04.023.
18. Adamus-Grabicka, A.A.; Markowicz-Piasecka, M.; Cieslak, M.; Królewska-Golinska, K.; Hikisz, P.; Kusz, J.; Małecka, M.; Budzisz, E. Biological Evaluation of 3-Benzylidenechromanones and Their Spiropyrazolines-Based Analogues. *Molecules* **2020**, *25*, 1613, doi:10.3390/molecules25071613.
19. Budzisz, E.; Paneth, P.; Geromino, I.; Muzioł, T.; Rozalski, M.; Krajewska, U.; Pipiak, P.; Ponczek, M.B.; Małecka, M.; Kupcewicz, B. The Cytotoxic Effect of Spiroflavanone Derivatives, Their Binding Ability to Human Serum Albumin (HSA) and a DFT Study on the Mechanism of Their Synthesis. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1137*, 267–276, doi:10.1016/j.molstruc.2017.02.037.
20. Nunes, R.C.; Ribeiro, C.J.A.; Monteiro, Â.; Rodrigues, C.M.P.; Amaral, D.; Santos, M.M.M. In Vitro Targeting of Colon Cancer Cells Using Spiropyrazoline Oxindoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 168–179, doi:10.1016/j.ejmech.2017.07.057.
21. Al-Majid, A.M.; Ghawas, H.M.; Islam, M.S.; Soliman, S.M.; El-Senduny, F.F.; Badria, F.A.; Ali, M.; Shaik, M.R.; Ghabbour, H.A.; Barakat, A. Synthesis of Spiroindolone Analogue via Three Components Reaction of Olefin with Isatin and Sarcosine: Anti-Proliferative Activity and Computational Studies. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1204*, 127500, doi:10.1016/j.molstruc.2019.127500.
22. Altowyan, M.S.; Barakat, A.; Al-Majid, A.M.; Al-Ghulikah, H.A. Spiroindolone Analogues as Potential Hypoglycemic with Dual Inhibitory Activity on α-Amylase and α-Glucosidase. *Molecules* **2019**, *24*, 2342, doi:10.3390/molecules24122342.
23. Boddy, A.J.; Bull, J.A. Stereoselective Synthesis and Applications of Spirocyclic Oxindoles. *Org. Chem. Front.* **2021**, *8*, 1026–1084, doi:10.1039/d0qo01085e.
24. Zhou, L.M.; Qu, R.Y.; Yang, G.F. An Overview of Spirooxindole as a Promising Scaffold for Novel Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2020**, *15*, 603–625, doi:10.1080/17460441.2020.1733526.
25. Váradi, A.; Marrone, G.F.; Palmer, T.C.; Narayan, A.; Szabó, M.R.; Le Rouzic, V.; Grinnell, S.G.; Subrath, J.J.; Warner, E.; Kalra, S.; et al. Mitragynine/Corynantheidine Pseudoindoxyls As Opioid Analgesics with Mu Agonism and Delta Antagonism, Which Do Not Recruit β-Arrestin-2. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 8381–8397, doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00748.
26. Radwan, A.A.; Aanazi, F.K.; Al-Agamy, M.; Mahrous, G.M. Design, Synthesis and Molecular Modeling Study of Substituted Indoline-2-Ones and Spiro[Indole-Heterocycles] with Potential Activity against Gram-Positive Bacteria. *Acta Pharm.* **2022**, *72*, 79–95, doi:10.2478/acph-2022-0004.
27. Boughaleb, A.; Akhazzane, M.; Al Houari, G.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des Arylnitriloxydes Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Thiophèn-3(2H)- One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2011**, *13*, 117–122.
28. Boughaleb, A.; Zouihri, H.; Gmouh, S.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. (2RS,4′RS)-3′-(3-Chloro-4-Methoxyphenyl)-4′-Phenyl- 4′H-Spiro-[Indene-2,5′-Isoxazol]-1(3H)-One Ethanol Monosolvate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2011**, *67*,

doi:10.1107/S1600536811032636.
29. Dadiboyena, S. Cycloadditions and Condensations as Essential Tools in Spiropyrazoline Synthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 347–377, doi:10.1016/j.ejmech.2013.01.059.
30. A. A. Elkanzi, N.; Hrichi, H.; A. Alolayan, R.; Derafa, W.; M. Zahou, F.; B. Bakr, R. Synthesis of Chalcones Derivatives and Their Biological Activities: A Review. *ACS Omega* **2022**, *7*, 27769–27786, doi:10.1021/acsomega.2c01779.
31. Brandão, P.; Marques, C.; Burke, A.J.; Pineiro, M. The Application of Isatin-Based Multicomponent-Reactions in the Quest for New Bioactive and Druglike Molecules. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *211*, 113102, doi:10.1016/j.ejmech.2020.113102.
32. Dandia, A.; Joshi, R.; Sehgal, V.; Sharma, C.S.; Saha, M. Synthesis of Novel 3-Spiroindolines Containing Benz(g) Indazole, Benz(h)Pyrazolo(3,4-b)Quinoline and Naphthisoxazol Moieties. *Heterocycl. Commun.* **1996**, *2*, 281–286, doi:10.1515/HC.1996.2.3.281.
33. Ibrahim, M.N.; El-Messmary, M.F.; Elarfi, M.G.A. Synthesis of Spiro Heterocyclic Compounds. *E-Journal Chem.* **2010**, *7*, 55–58, doi:https://doi.org/10.1155/2010/604549.
34. Azizian, J.; Shaabanzadeh, M.; Hatamjafari, F.; Mohammadizadeh, M.R. One-Pot Rapid and Efficient Synthesis of New Spiro Derivatives of 11H-Indeno[1,2-b]Quinoxalin-11-One, 6H-Indeno[1,2-b]Pyrido [3,2-e]Pyrazin-6-One and Isatin-Based 2-Pyrazolines. *Arkivoc* **2006**, *2006*, 47–58, doi:10.3998/ark.5550190.0007.b04.
35. Otomasu, H.; Tanaka, T.; Aoyagi, M. Spiro Heterocyclic Compound. II. Synthesis of Spiro[Indoline-3, 3‘- (5‘-Pyrazolin)]-2-Ones and Related Compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 782–787, doi:10.1248/cpb.24.782.
36. Deepthi, A.; Acharjee, N.; Sruthi, S.L.; Meenakshy, C.B. An Overview of Nitrile Imine Based [3+2] Cycloadditions over Half a Decade. *Tetrahedron* **2022**, *116*, 132812, doi:10.1016/j.tet.2022.132812.
37. Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. 76. Concerted Nature of 1,3-Dipolar Cycloadditions and the Question of Diradical Intermediates. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 403–419, doi:10.1021/jo00865a001.
38. Huisgen, R.; Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1963**, *2*, 565–598, doi:10.1002/anie.196305651.
39. Huisgen, R.; Seidel, M.; Wallbillich, G.; Knupeer, H. Diphenyl-Nitrilimin Und Seine 1,3-Dipolarenadditionen an Alkene Und Alkine. *Tetrahedron* **1962**, *17*, 3–29.
40. Livingstone, K.; Little, G.; Jamieson, C. Recent Advances in the Generation of Nitrilium Betaine 1,3-Dipoles. *Synthesis (Stuttg).* **2021**, *53*, 2399–2407, doi:10.1055/a-1389-1281.
41. Jamieson, C.; Livingstone, K. *The Nitrile Imine 1,3-Dipole: Properties, Reactivity and Applications*; 2020; ISBN 9783030434816.
42. Singh, A.; Loomer, A.L.; Roth, G.P. Synthesis of Oxindolyl Pyrazolines and 3-Amino Oxindole Building Blocks via a Nitrile Imine [3+2] Cycloaddition Strategy. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5266–5269, doi:10.1021/ol302425h.
43. Wang, G.; Liu, X.; Huang, T.; Kuang, Y.; Lin, L.; Feng, X. Asymmetric Catalytic 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction of Nitrile Imines for the Synthesis of Chiral Spiro-Pyrazoline-Oxindoles. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 76–79, doi:10.1021/ol303097j.
44. Gerten, A.L.; Slade, M.C.; Pugh, K.M.; Stanley, L.M. Catalytic, Enantioselective 1,3-Dipolar Cycloadditions of Nitrile Imines with Methyleneindolinones. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7834–7837, doi:10.1039/c3ob41815d.
45. Verma, D.; Mobin, S.; Namboothiri, I.N.N. Highly Selective Synthesis of Pyrazole and Spiropyrazoline Phosphonates via Base-Assisted Reaction of the Bestmann-Ohira

Reagent with Enones. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4764–4770, doi:10.1021/jo200582z.
46. Gupta, A.K.; Ahamad, S.; Gupta, E.; Kant, R.; Mohanan, K. Substrate-Controlled Product-Selectivity in the Reaction of the Bestmann-Ohira Reagent with N-Unprotected Isatin-Derived Olefins. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 9783–9788, doi:10.1039/c5ob01382h.
47. Du, T.; Du, F.; Ning, Y.; Peng, Y. Organocatalytic Enantioselective 1,3-Dipolar Cycloadditions between Seyferth–Gilbert Reagent and Isatylidene Malononitriles: Synthesis of Chiral Spiro-Phosphonylpyrazoline-Oxindoles. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 1308–1311, doi:10.1021/acs.orglett.5b00311.
48. Jamali, M.F.; Vaishanv, K.; Mohanan, K. The Bestmann-Ohira Reagent and Related Diazo Compounds for the Synthesis of Azaheterocycles. *Chem. Rec.* **2020**, *20*, 1–16, doi:10.1002/tcr.202000091.
49. Rezvanian, A.; Babashah, M. Synthesis of Spiropyrazolines via a Pseudo-Six Component Reaction. *J. Heterocycl. Chem.* **2019**, *56*, 1362–1368, doi:10.1002/jhet.3510.
50. Singh, S.; Saquib, M.; Singh, S.B.; Singh, M.; Singh, J. Catalyst Free, Multicomponent-Tandem Synthesis of Spirooxindole-Indazolones and Spirooxindole-Pyrazolines: A Glycerol Mediated Green Approach. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 45152–45157, doi:10.1039/c5ra02794b.
51. Krishnan, J.; Rajan Paul, R. A Novel Protocol Involving Huisgen Zwitterions for the Synthesis of Bispyrazolines, and Highly Functionalized Pyrazolines. *Tetrahedron Lett.* **2022**, *106*, 154059, doi:10.1016/J.TETLET.2022.154059.
52. Ren, Y.; Meng, L.-G.; Peng, T.; Zhu, L.; Wang, L. 4-Dimethylaminopyridine-Catalyzed Regioselective [3+2] Cycloaddition of Isatin-Derived Morita–Baylis–Hillman Adducts with Azo Esters: A Simple Protocol to Access 3- Spiropyrazole-2-Oxindoles. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 3176–3180, doi:10.1002/adsc.201800552.
53. Guo, C.; Sahoo, B.; G. Daniliuc, C.; Glorius, F. N-Heterocyclic Carbene Catalyzed Switchable Reactions of Enals with Azoalkenes: Formal [4+3] and [4+1] Annulations for the Synthesis of 1,2-Diazepines and Pyrazoles. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 17402–17405, doi:10.1021/ja510737n.
54. Wei, L.; Yao, L.; Wang, Z.-F.; Li, H.; Tao, H.-Y.; Wang, C.-J. Copper(I)-Catalyzed Asymmetric 1,3-Dipolar [3+4] Cycloaddition of Nitrones with Azoalkenes. *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 3748–3752, doi:https://doi.org/10.1002/adsc.201600457.
55. Chen, D.Z.; Xiao, W.J.; Chen, J.R. Synthesis of Spiropyrazoline Oxindoles by a Formal [4 + 1] Annulation Reaction between 3-Bromooxindoles and: In Situ -Derived 1,2-Diaza-1,3-Dienes. *Org. Chem. Front.* **2017**, *4*, 1289–1293, doi:10.1039/c7qo00163k.
56. Quan, B.X.; Zhuo, J.R.; Zhao, J.Q.; Zhang, M.L.; Zhou, M.Q.; Zhang, X.M.; Yuan, W.C. Annulation Reaction of Cyclic Pyridinium Ylides with: In Situ Generated Azoalkenes for the Construction of Spirocyclic Skeletons. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 1886–1891, doi:10.1039/c9ob02733e.
57. Boughaleb, A.; Zouihri, H.; Gmouh, S.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. (2RS,4′RS)-3′-(3-Chloro-4-Methoxyphenyl)-4′-Phenyl- 4′H-Spiro-[Indene-2,5′-Isoxazol]-1(3H)-One Ethanol Monosolvate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2011**, *67*, o2434, doi:10.1107/S1600536811032636.
58. Boughaleb, A.; Akhazzane, M.; Al Houari, G.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des Arylnitriloxydes Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Thiophèn-3(2H)-One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2011**, *13*, 117–122.
59. Pechmann, H. V.; Seeberger, L. Ueber Die Einwirkung von Phosphorpentachlorid Auf

S-Benzogl- Phenylhydrazin. *Chem. Ber* **1894**, *27*, 2121–2125, doi:https://doi.org/10.1002/cber.189402702188.

60. Belaissaoui, A. Etude de La Reactivite de La N-Ethoxycarbonyl-N-(2,2,2-Trichloroethylidene)Amine Avec Quelques Dipoles-1,3, Université de Franche-Comté, 1995.
61. Chalkha, M.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Nicolas, Y.; Al Houari, G.; El Yazidi, M. Design, Synthesis and Characterization of Functionalized Pyrazole Derivatives Bearing Amide and Sulfonamide Moieties from Aza-Aurones. *J. Chem. Sci.* **2020**, *132*, 86, doi:10.1007/s12039-020-01792-3.
62. M'Sadek, M.; Rammah, M.; Schmitt, G.; Vebrel, J. Reaction de Diverses 2-Arylidene-Benzofuran-3-Ones Avec La Diphenylnitrilimine. Une Nouvelle Synthese d'ortho-Hydroxybenzoylpyrazoles. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, *101*, 323–327, doi:10.1002/bscb.19921010413.
63. Boughaleb, A.; Houari, G. Al; Bennani, B.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des N-Phényl-C-Arylnitrilimines Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Tiophèn-3(2H)-One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2010**, *12*, 109–115.
64. Kerbal, A.; Tshiamala, K.; Vebrel, J.; Laude, B.; Mercie, M.-F. Réaction de Diarylnitrlimines Sur Des 2-Arylidene-Tetralin-1-Ones Substituées. Influence Des Facteurs Conformationnels Sur La Diastéreochimie de La Réaction. *Bull. Scc. Chim. Belg* **1991**, *100*, 159–168, doi:10.1002/bscb.19911000209.
65. Kerbal, A.; Trhiamrla, K.; Vebrel, J.; Laudet, B. Cycloaddition De Quelques Diarylnitrilimines Sur Diverses Arylidene-2 Indanones-1. Régio-Et Diastéréochimies Des Spiropyrazolines Synthétisées. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1988**, *97*, 149–162, doi:10.1002/bscb.19880970207.
66. Boudrigaa, S.; Askria, M.; Gharbib, R.; Rammaha, M.; Ciamala, K. 1,3-Dipolar Cycloadditions of Arylcarbonitrile Oxides and Diaryl Nitrilimines with Some 2-Arylmethylene- 1,3-Indanediones; Regiochemistry of the Reactions. *J. Chem. Res.* **2003**, *4*, 204–207, doi:10.3184/030823403103173723.
67. Riley, L.W. Pandemic Lineages of Extraintestinal Pathogenic Escherichia Coli. *Clin. Microbiol. Infect.* **2014**, *20*, 380–390, doi:10.1111/1469-0691.12646.
68. de Lastours, V.; Laouénan, C.; Royer, G.; Carbonnelle, E.; Lepeule, R.; Esposito-Farèse, M.; Clermont, O.; Duval, X.; Fantin, B.; Mentré, F.; et al. Mortality in Escherichia Coli Bloodstream Infections: Antibiotic Resistance Still Does Not Make It. *J. Antimicrob. Chemother.* **2020**, *75*, 2334–2343, doi:10.1093/JAC/DKAA161.
69. Barbier, T.; Barbry, A.; Magand, J.; Badiou, C.; Davy, F.; Baudouin, A.; Queneau, Y.; Dumitrescu, O.; Lina, G.; Soulère, L. Synthesis and Biological Evaluation of Benzo[b]Thiophene Acylhydrazones as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Staphylococcus Aureus. *Biomolecules* **2022**, *12*, 131, doi:10.3390/biom12010131.
70. Boustany-Kari, C.M.; Jackson, V.M.; Gibbons, C.P.; Swick, A.G. Leptin Potentiates the Anti-Obesity Effects of Rimonabant. *Eur. J. Pharmacol.* **2011**, *658*, 270–276, doi:10.1016/j.ejphar.2011.02.021.
71. Wyde, P.R.; Gilbert, B.E.; Ambrose, M.W. Comparison of the Anti-Respiratory Syncytial Virus Activity and Toxicity of Papaverine Hydrochloride and Pyrazofurin in Vitro and in Vivo. *Antiviral Res.* **1989**, *11*, 15–26, doi:10.1016/0166-3542(89)90017-X.
72. Tsutomu, K.; Toshitaka, N. Effects of 1,3-Diphenyl-5-(2-Dimethylaminopropionamide)-Pyrazole[Difenamizole] on a Conditioned Avoidance Response. *Neuropharmacology* **1978**, *17*, 249–256, doi:10.1016/0028-3908(78)90108-

9.
73. Murphy, M.P. How Mitochondria Produce Reactive Oxygen Species. *Biochem. J.* **2009**, *417*, 1–13, doi:10.1042/BJ20081386.
74. Bedard, K.; Krause, K.H. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiol. Rev.* **2007**, *87*, 245–313, doi:10.1152/physrev.00044.2005.
75. Cai, H.; Harrison, D.G. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. *Circ. Res.* **2000**, *87*, 840–844, doi:10.1161/01.res.87.10.840.
76. Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.D.; Mazur, M.; Telser, J. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, *39*, 44–84, doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
77. Cui, K.; Luo, X.; Xu, K.; Ven Murthy, M.R. Role of Oxidative Stress in Neurodegeneration: Recent Developments in Assay Methods for Oxidative Stress and Nutraceutical Antioxidants. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **2004**, *28*, 771–799, doi:10.1016/J.PNPBP.2004.05.023.
78. Pisoschi, A.M.; Pop, A.; Iordache, F.; Stanca, L.; Predoi, G.; Serban, A.I. Oxidative Stress Mitigation by Antioxidants - An Overview on Their Chemistry and Influences on Health Status. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *209*, 112891, doi:10.1016/J.EJMECH.2020.112891.
79. Starkov, A.A. The Role of Mitochondria in Reactive Oxygen Species Metabolism and Signaling. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2008**, *1147*, 37–52, doi:https://doi.org/10.1196/annals.1427.015.
80. Prasad, A.; Sedlářová, M.; Balukova, A.; Rác, M.; Pospíšil, P. Reactive Oxygen Species as a Response to Wounding: In Vivo Imaging in Arabidopsis Thaliana. *Front. Plant Sci.* **2020**, *10*, doi:10.3389/fpls.2019.01660.
81. Gilgun-Sherki, Y.; Melamed, E.; Offen, D. Oxidative Stress Induced-Neurodegenerative Diseases: The Need for Antioxidants That Penetrate the Blood Brain Barrier. *Neuropharmacology* **2001**, *40*, 959–975, doi:10.1016/S0028-3908(01)00019-3.
82. Alam, M.N.; Bristi, N.J.; Rafiquzzaman, M. Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharm. J.* **2013**, *21*, 143–152, doi:10.1016/J.JSPS.2012.05.002.
83. Blois, M.S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* **1958**, *181*, 1199–1200, doi:10.1038/1811199a0.
84. Benzie, I.F.F.; Strain, J.J.B.T.-M. in E. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. In *Oxidants and Antioxidants Part A*; Academic Press, 1999; Vol. 299, pp. 15–27 ISBN 0076-6879.
85. Karali, N.; Güzel, Ö.; Özsoy, N.; Özbey, S.; Salman, A. Synthesis of New Spiroindolinones Incorporating a Benzothiazole Moiety as Antioxidant Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1068–1077, doi:10.1016/j.ejmech.2009.12.001.
86. Ali, I.; Rafique, R.; Khan, K.M.; Chigurupati, S.; Ji, X.; Wadood, A.; Rehman, A.U.; Salar, U.; Iqbal, M.S.; Taha, M.; et al. Potent α-Amylase Inhibitors and Radical (DPPH and ABTS) Scavengers Based on Benzofuran-2-Yl(Phenyl)Methanone Derivatives: Syntheses, in Vitro, Kinetics, and in Silico Studies. *Bioorg. Chem.* **2020**, *104*, 104238, doi:10.1016/j.bioorg.2020.104238.
87. Kumara, K.; Prabhudeva, M.G.; Vagish, C.B.; Vivek, H.K.; Lokanatha Rai, K.M.; Lokanath, N.K.; Ajay Kumar, K. Design, Synthesis, Characterization, and Antioxidant Activity Studies of Novel Thienyl-Pyrazoles. *Heliyon* **2021**, *7*, e07592,

doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07592.
88. Wolfe, N.D.; Dunavan, C.P.; Diamond, J. Origins of Major Human Infectious Diseases. *Nature* **2007**, *447*, 279–283, doi:10.1038/nature05775.
89. Morens, D.M.; Fauci, A.S. Emerging Infectious Diseases: Threats to Human Health and Global Stability. *PLoS Pathog.* **2013**, *9*, 7–10, doi:10.1371/journal.ppat.1003467.
90. Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433, doi:10.1128/mmbr.00016-10.
91. Hawkey, P.M.; Jones, A.M. The Changing Epidemiology of Resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *64*, i3–i10, doi:10.1093/jac/dkp256.
92. Balouiri, M.; Sadiki, M.; Ibnsouda, S.K. Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *J. Pharm. Anal.* **2016**, *6*, 71–79, doi:10.1016/J.JPHA.2015.11.005.
93. E., L.-O.; I., A.A.; C., M.; C., C.; M., R.; M., P.J.; E., C.; C., A.; E., M.-M. Evaluation of Disk Diffusion Method for Determining Posaconazole Susceptibility of Filamentous Fungi: Comparison with CLSI Broth Microdilution Method. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 1108–1111, doi:10.1128/AAC.50.3.1108-1111.2006.
94. Baker, C.N.; Stocker, S.A.; Culver, D.H.; Thornsberry, C. Comparison of the E Test to Agar Dilution, Broth Microdilution, and Agar Diffusion Susceptibility Testing Techniques by Using a Special Challenge Set of Bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **1991**, *29*, 533–538, doi:10.1128/jcm.29.3.533-538.1991.
95. K. Finn, R. Theory of Agar Diffusion Methods for Bioassay. *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 975–977, doi:10.1021/ac60150a040.
96. H., R.; H., E.-S.A.; W., S.B. Agar Diffusion Method for the Assay of Colicins. *Appl. Microbiol.* **1968**, *16*, 1468–1474, doi:10.1128/am.16.10.1468-1474.1968.
97. Cantón, E.; Pemán, J.; Viudes, A.; Quindós, G.; Gobernado, M.; Espinel-Ingroff, A. Minimum Fungicidal Concentrations of Amphotericin B for Bloodstream Candida Species. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2003**, *45*, 203–206, doi:10.1016/S0732-8893(02)00525-4.
98. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. CLSI Document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012; ISBN 1562387855.
99. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard Third Edition. CLSI Document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institue; 2008.
100. Ravindar, L.; Bukhari, S.N.A.; Rakesh, K.P.; Manukumar, H.M.; Vivek, H.K.; Mallesha, N.; Xie, Z.Z.; Qin, H.L. Aryl Fluorosulfate Analogues as Potent Antimicrobial Agents: SAR, Cytotoxicity and Docking Studies. *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 107–118, doi:10.1016/j.bioorg.2018.08.001.
101. Esfahani, S.N.; Damavandi, M.S.; Sadeghi, P.; Nazifi, Z.; Salari-Jazi, A.; Massah, A.R. Synthesis of Some Novel Coumarin Isoxazol Sulfonamide Hybrid Compounds, 3D-QSAR Studies, and Antibacterial Evaluation. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1–15, doi:10.1038/s41598-021-99618-w.
102. Fasiuddin, G.S.; Liakath Ali Khan, F.; Sakthivel, S.; Muthu, S.; Irfan, A. Synthesis, Spectroscopic, Molecular Docking and Inhibitory Activity of 6-Bromo-2-(4-Chlorophenyl)-1H-Benzimidazole- a DFT Approach. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1261*, 132815, doi:10.1016/j.molstruc.2022.132815.
103. Belaissaoui, A. Etude de La Reactivite de La N-Ethoxycarbonyl-N-(2,2,2-Trichloroethylidene)Amine Avec Quelques Dipoles-1,3, Uni- versité de Franche-Comté, 1995.

104. Chebbac, K.; Ghneim, H.K.; El Moussaoui, A.; Bourhia, M.; El Barnossi, A.; Ouaritini, Z.B.; Salamatullah, A.M.; Alzahrani, A.; Aboul-Soud, M.A.M.; Giesy, J.P.; et al. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chemically-Characterized Essential Oil from Artemisia Aragonensis Lam. against Drug-Resistant Microbes. *Molecules* **2022**, *27*, 1136, doi:10.3390/molecules27031136.
105. El Moussaoui, A.; Jawhari, F.Z.; Almehdi, A.M.; Elmsellem, H.; Fikri Benbrahim, K.; Bousta, D.; Bari, A. Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activity of Total Polyphenols of Withania Frutescens.L. *Bioorg. Chem.* **2019**, *93*, 103337, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103337.
106. Barmak, A.; Niknam, K.; Mohebbi, G.; Pournabi, H. Antibacterial Studies of Hydroxyspiro[Indoline-3,9-Xanthene]Trione against Spiro[Indoline3,9-Xanthene]Trione and Their Use as Acetyl and Butyrylcholinesterase Inhibitors. *Microb. Pathog.* **2019**, *130*, 95–99, doi:10.1016/j.micpath.2019.03.002.
107. Alici, E.H.; Bilgiçli, A.T.; Tüzün, B.; Günsel, A.; Arabaci, G.; Yarasir, M.N. Alkyl Chain Modified Metalophthalocyanines with Enhanced Antioxidant-Antimicrobial Properties by Doping Ag+ and Pd2+ Ions. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1257*, 132634, doi:10.1016/j.molstruc.2022.132634.
108. Bishoyi, A.K.; Mahapatra, M.; Paidesetty, S.K.; Padhy, R.N. Design, Molecular Docking, and Antimicrobial Assessment of Newly Synthesized Phytochemical Thymol Mannich Base Derivatives. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1244*, 130908, doi:10.1016/j.molstruc.2021.130908.

Chapitre III : Synthèse et évaluation biologique des dérivés pyrazoliques tétrasubstitués

I. Introduction

Les composés hétérocycliques constituent une source importante de molécules dans l'enquête de nouveaux principes actifs [1]. Ils sont devenus de plus en plus impliqués dans la découverte de nouvelles classes d'entités structurelles à vocation médicinale avec de nouveaux mécanismes d'action. Les composés pyrazoliques comptent parmi ces systèmes hétérocycliques dotés de diverses bio-activités. Ils sont présents comme pharmacophores dans des noyaux de base de nombreux médicaments [2–4]. Ils sont également omniprésents dans plusieurs pesticides [5]. Ils sont présents également dans le squelette moléculaire des produits naturels [6].

La synthèse de nouveaux dérivés de pyrazole et l'étude de leurs comportements chimique et biologique ont suscité beaucoup d'importance au cours des dernières années, ce qui est traduit par le grand nombre de travaux publiés. Les dérivés de pyrazole possèdent des propriétés pharmacologiques remarquables telles que des activités anti-inflammatoire [7], antibactérienne [8], antifongique [9], anticancéreuse [10], anti-Alzheimer [11], anti-mycobactérienne [12], antivirale [13], anticorrosion, etc. Ils sont également utilisés comme réactifs de chélation et d'extraction pour de nombreux ions métalliques lourds [14–16].

D'autre part, les pyrazoles sont utilisés comme matériaux de départ pour la construction de nouvelles substances bioactives et représentent un modèle intéressant pour la chimie combinatoire. La modification structurelle du pyrazole par substitution, addition, ou fusion de différents groupes fonctionnels est l'une des approches intéressantes pour la synthèse de nouveaux composés fonctionnalisés efficaces contre des pathologies émergentes. L'introduction des groupements amide ou sulfonamide par exemple dans le noyau du pyrazole est une stratégie importante qui confère des propriétés spéciales à la molécule [17–19]. Il devient donc cohérent d'intensifier la recherche dans ce domaine sachant que les hétérocycles azotés restent une source d'inspiration fructueuse pour les industries pharmaceutique et médicinale.

II. Structure du pyrazole

Le pyrazole est un système hétérocyclique aromatique qui appartient à la classe des azoles. Il s'agit d'un cycle à cinq chaînons qui comporte deux atomes d'azote adjacents et de trois atomes de carbone. L'atome d'azote 1 (N_1) est "de type pyrrole" car ses électrons non partagés sont conjugués au système aromatique. L'atome d'azote 2 (N_2) est "de type pyridine", ses électrons non partagés ne sont pas impliqués dans la résonance. En raison des différences

entre les atomes d'azote, les pyrazoles réagissent à la fois avec les acides et les bases pour donner des cations et des anions (*figure III.1*) [20].

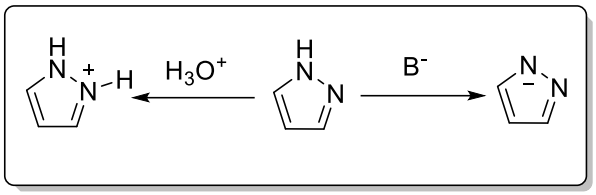


Figure III.1. Cation et anion produits à partir du pyrazole

III. Intérêt biologique des pyrazoles

III.1. Produits naturels contenant le pyrazole

Le noyau pyrazole est rencontré dans un certain nombre de produits naturels possédant diverses propriétés biologiques [6]. La *figure III.2* rassemble des exemples d'hétérocycles naturels dotés d'activité biologique et qui renferment dans leur structure le pyrazole. Parmi ces composés naturels à titre d'exemple La (S)-β-pyrazolylalanine, un isomère de l'histidine, isolé pour la première fois en 1959 à partir des graines de *Citrullus vulgaris*. C'est un acide aminé qui possède une activité antidiabétique [21]. La Withasomnine isolée pour la première fois en 1966 à partir des racines de la plante médicinale *Withania Somnifera Dun*, utilisée dans la médecine traditionnelle indienne pour le traitement de troubles légers (effets analgésique et antidépresseur) [22]. La pyrazomycine (pyrazofurine) qui est un produit naturel trouvé dans les *Streptomyces candidus* [23,24]. D'autres composés naturels présentant des activités biologiques tels le Formycine A, Formycine B, Oxoformycine B, Fluviol D, Acide pyrazole-3(5)-carboxylique, Acide 4-Méthyl pyrazole-3(5)-carboxylique et 3-n-Nonylpyrazole sont donnés dans la même figure.

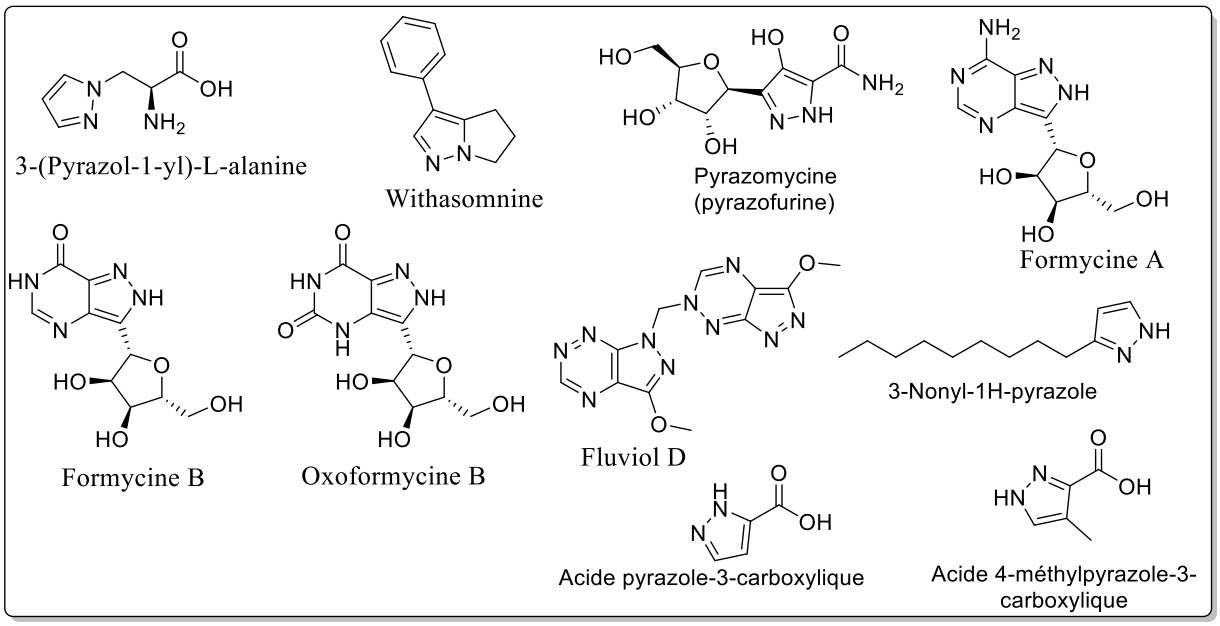


Figure III.2. Produits naturels contenant le noyau pyrazole

III.2. Médicaments commercialisés contenant le pyrazole

Les systèmes pyrazoliques en tant que biomolécules ont attiré plus d'attention en raison de leurs propriétés pharmacologiques [25]. Ils entrent dans la conception de nombreuses molécules médicamenteuses utilisées dans divers domaines tels que, pharmaceutique, biologique, agricole et médicinal, ce qui les rend particulièrement intéressants [26]. En effet, la fraction pyrazole représente le noyau central de divers médicaments commercialisés, comme l'épirazole et lonazolac qui sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), le fézolamine et le zométapine qui possèdent une activité antidépressive et le crizotinib qui est un agent anticancéreux. En outre, les pyrazoles forment également un squelette structurel central de divers pesticides à savoir, le penthiopyrade connu comme fongicide, le fipronil qui présente un effet insecticide et le fluazolate en tant qu'herbicide. D'autres agents thérapeutiques largement utilisés comme préventifs et curatifs contre diverses maladies complexes ayant comme structure de base le fragment pyrazole liés à des groupements amide et sulfonamide sont disponibles sur le marché [2–4,18,19]. Parmi ces agents des antibiotiques comme le sulfaphénazole [19], et des anti-inflammatoires comme le célécoxib [18], déracoxib [27], rimonabant [2], tépoxaline et difénamizole [4], etc (*figure III.3*).

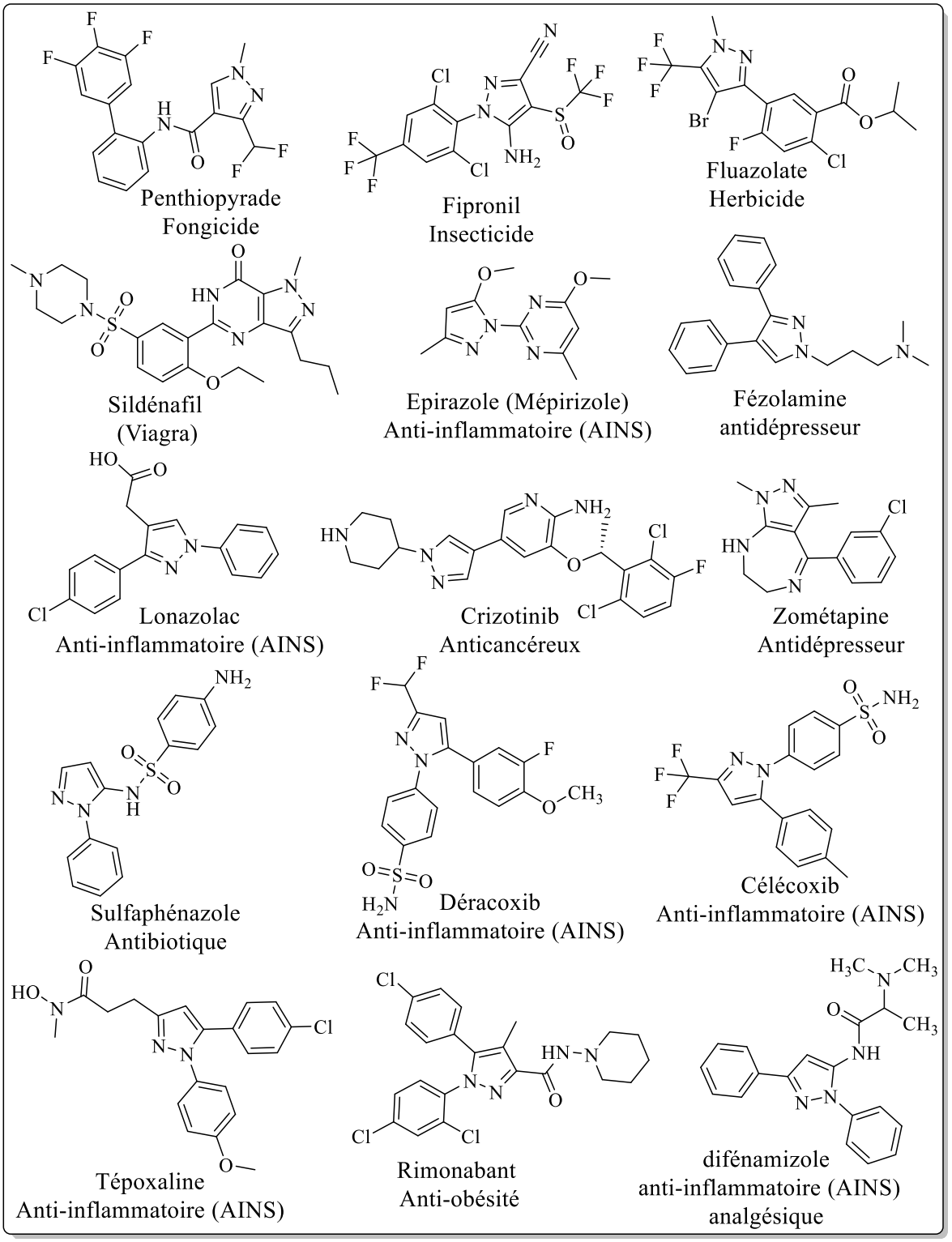


Figure III.3. Médicaments commercialisés contenant dans leur structure le motif pyrazole.

III.3. Propriétés biologiques des dérivés pyrazoliques synthétiques

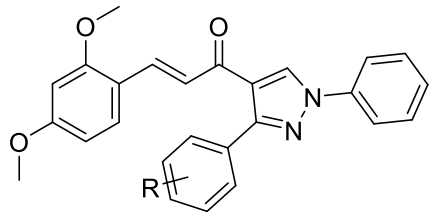
Au cours de la dernière décennie, de nombreux scientifiques et chercheurs ont montré que la conception de nouvelles petites molécules médicamenteuses basées sur le squelette du pyrazole est une direction raisonnable et prometteuse dans la chimie médicinale moderne.

Cela a été prouvé par le grand nombre de revues et d'articles scientifiques publiés indiquant que les dérivés synthétiques du pyrazole ont une multitude d'applications dans différents domaines [13,25,28–30]. Nous présentons en particulier ci-dessous quelques études rapportées qui explorent le potentiel des molécules contenant le noyau pyrazole en tant que candidats antibactériens, antifongiques et antioxydants.

III.3.1. Activité antimicrobienne des pyrazoles

Les infections bactériennes et fongiques sont devenues une menace importante et une cause majeure de décès chez les êtres vivants. En raison de l'émergence de la pharmaco résistance, une attention particulière a été accordée à la recherche de nouveaux agents pour combattre les bactéries et les champignons multi-résistants. À cet égard, plusieurs équipes de chimistes ont concentré leurs efforts à la synthèse de nouveaux systèmes pyrazoliques ayant une forte probabilité d'être des agents antimicrobiens potentiellement efficaces [31].

De nouveaux dérivés pyrazoliques poly-substitués ont été synthétisés par Bandgar et *al*. Les auteurs ont testé leur activité antimicrobienne *in vitro* contre plusieurs souches pathogènes [32]. D'après les résultats, une activité antifongique remarquable a été obtenue pour certains composés portant les substituants 4-CH_3, 4-OCH_3, 2,4-$(OCH_3)_2$, F et Br contre les champignons *Aspergillus flavus* et *Trichoderma viridae* à une CMI de 250 µg/ml. De plus, parmi les souches bactériennes testées, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* ont été inhibées par les composés pyrazoliques substitués par 4-OCH_3, 4-Cl, 4-CH_3, Br, 2,4-$(Cl)_2$ et 2,4-$(OCH_3)_2$ à des CMI de 100 µg/ml. La relation structure activité suggère que les groupements donneurs des électrons augmentent l'activité antimicrobienne. Elle indique aussi que la position du substituant dans le cycle phényle s'avère également pertinente pour augmenter l'activité antimicrobienne des pyrazoles (*figure III.4*).



R= H, 4-CH_3, 4-OCH_3, 2,4-$(OCH_3)_2$, F, Br, 2,4-$(Cl)_2$, 3-Cl, 4-Cl

Figure III.4

Sharma et *al*. ont préparé une nouvelle gamme de pyrazoles fonctionnalisés et évalué leur activité antibactérienne *in vitro* contre quatre souches bactériennes pathogènes, à savoir *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (*figure*

III.5) [31]. Les résultats révèlent que les pyrazoles testés montrent une activité antibactérienne modérée à bonne contre les bactéries à Gram-positif (*S. aureus*, *B. subtilis*) en comparaison avec le médicament standard ciprofloxacine. Parmi les différents dérivés du pyrazole explorés, le composé pyrazolique qui porte la fonction acide (A) et le substituant chlore induit une activité antibactérienne maximale avec un effet inhibiteur à une CMI de 32 µg/ml contre la souche *B. subtilis*. Les dérivés pyrazoliques portant la fonction thioamide (B) et (C) se sont avérés plus efficaces contre la souche *S. aureus* à la même CMI. Cependant, aucun de ces dérivés pyrazoliques n'était efficace contre les bactéries à Gram-négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*).

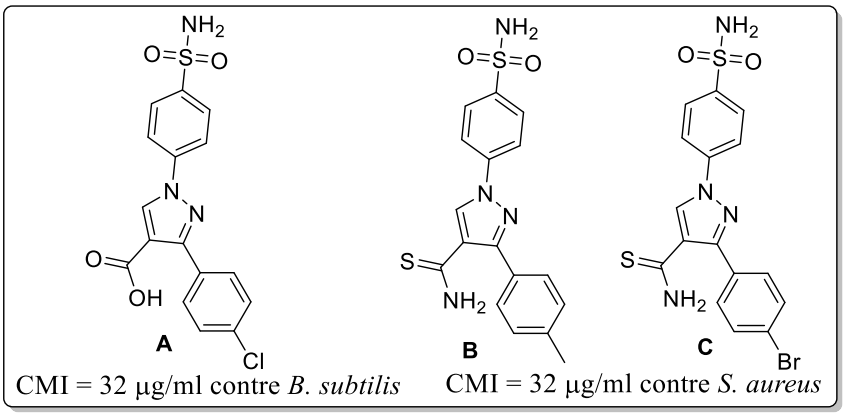


Figure III.5

Dans une autre étude, de nouveaux dérivés de pyrazoles fonctionnalisés ont été synthétisés par Mert et *al*. et testés pour leur activité antifongique contre les souches pathogènes fongiques standards et cliniques [33]. La plupart des dérivés de pyrazole étudiés ont montré un effet inhibiteur plus fort sur les souches standards et cliniques de *Candida albicans*, avec des valeurs de CMI comprises entre 25 et 50 µg/ml. Parmi ces noyaux pyrazoliques, les composés illustrés dans la *figure III.6* représentent les plus puissants à la fois contre l'isolat clinique et la souche standard de *C. albicans* à une CMI de 25 µg/ml en comparaison avec le médicament standard la nystatine (19 µg/ml).

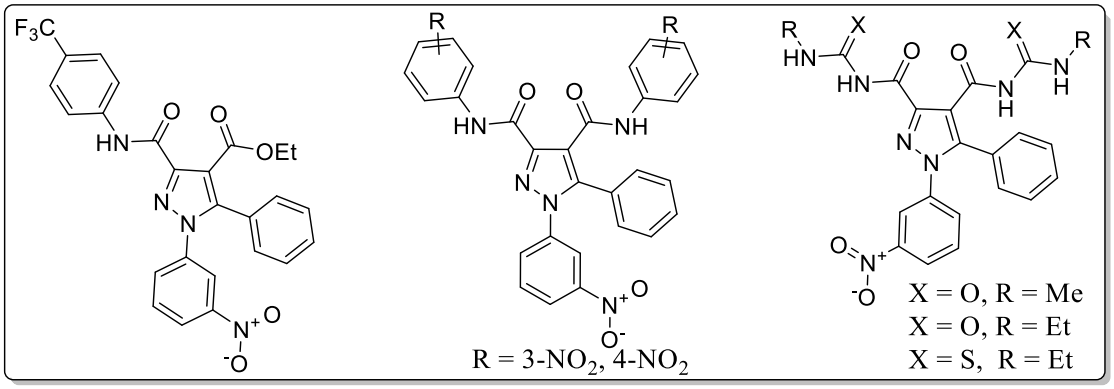


Figure III.6

III.3.2. Activité antioxydante des pyrazoles

Le stress oxydatif est induit par la présence de radicaux libres qui peuvent endommager les membranes cellulaires, les lipides membranaires et les acides nucléiques. Il est devenu l'une des principales causes de plusieurs maladies pathogènes. Par conséquent, l'élimination des radicaux libres et des espèces apparentées a attiré beaucoup d'attention ces dernières années. Le pyrazole est parmi les composés hétérocycliques qui présentent un grand intérêt dans ce domaine, du fait qu'il est largement étudié en tant que pharmacophore pour le développement de composés antioxydants [34].

Récemment, Sangwan et *al*. ont rapporté la synthèse et l'évaluation de l'activité antioxydante de nouveaux dérivés de pyrazoles en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH$^{\bullet}$ [35]. Les données obtenues sur l'activité antioxydante ont révélé que certains composés étudiés ont présenté une capacité de piégeage des radicaux libres DPPH$^{\bullet}$. Parmi eux, les composés A, B et C ont montré une puissante activité de piégeage des radicaux libres avec des valeurs de l'IC_{50} minimale de 92,34 µg/ml, 87,14 et 96,36 µg/ml, respectivement. Les auteurs ont constaté que la présence du groupe nitro sur le cycle phényle est significative dans l'amélioration de l'activité antioxydante (*figure III.7*).

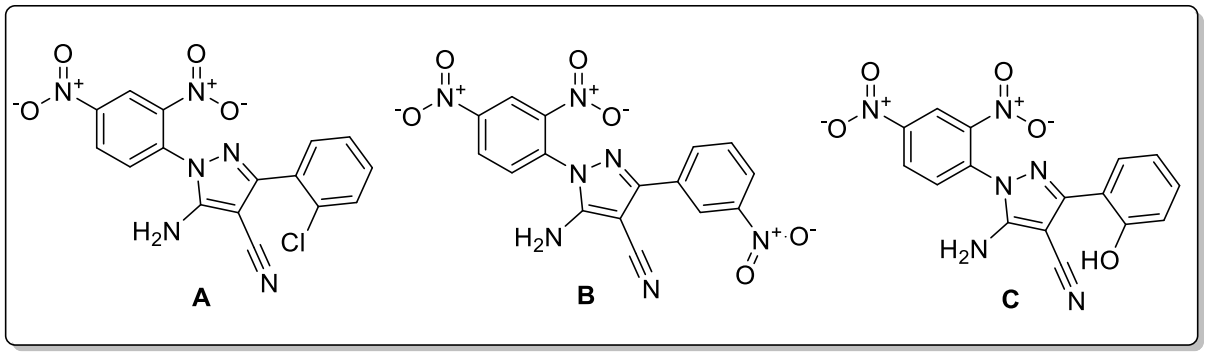


Figure III.7

Sribalan et *al*. ont décrit l'activité antioxydante de nouvelles séries de pyrazoles portant le groupement amide [36]. Les nouveaux composés ont été testés pour leur capacité de piégeage du radical libre DPPH• et de peroxyde d'hydrogène H_2O_2. Parmi les pyrazoles examinés, les composés contenant des unités thiophène et o-chlorophényle ont montré la capacité la plus élevée de piégeage du DPPH• avec des valeurs de l'IC_{50} de 27,59 et 27,71 µM, respectivement. Tandis que, les composés portant des groupes *p*-méthoxy, 3,4,5-triméthoxy et o-méthoxy ont montré une meilleure activité de piégeage de H_2O_2 que les autres (*figure III.8*).

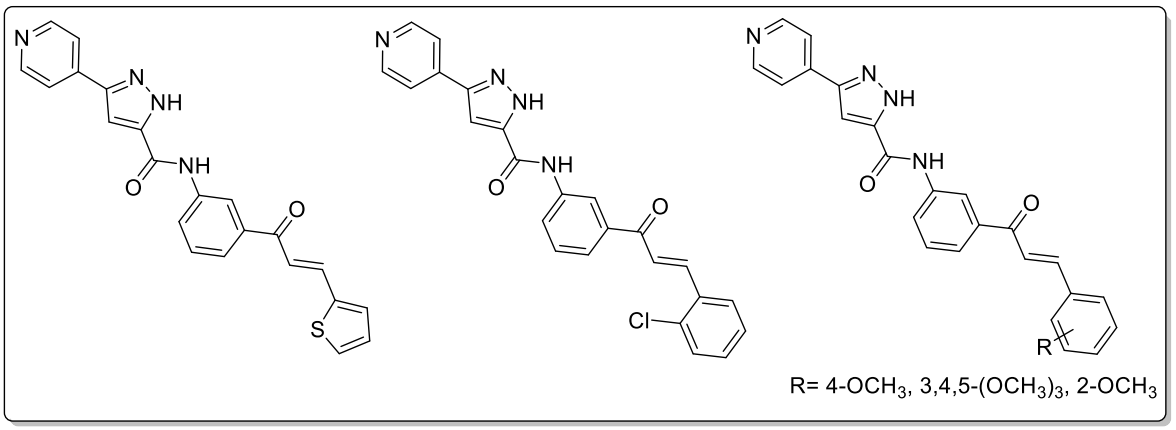


Figure III.8

L'analyse des données de la littérature montre que la modification du profil structurel par changement des substituants dans différentes positions du cycle pyrazole affecte remarquablement la bioactivité. En particulier, l'incorporation de groupements fonctionnels tels que l'amide, sulfonamide et thioamide dans les molécules organiques, y compris les dérivés du pyrazole, peut potentiellement modifier et améliorer l'activité biologique [34,37–40].

IV. Méthodes de synthèse des dérivés de pyrazole

En raison des activités biologiques prometteuses de divers pyrazoles et dérivés, une attention considérable a été accordée à la synthèse des pyrazoles. De nombreuses stratégies ont été développées dans ce cadre. Les méthodes classiques pour leur synthèse impliquent souvent des approches basées soit sur les réactions de cyclocondensation, soit sur des réactions de cycloaddition. Cependant, au cours des dernières années, de nouvelles méthodologies plus efficaces ont été mises en évidence et des modifications importantes ont été apportées sur les approches classiques, dans le but d'améliorer le rendement et d'augmenter la régiosélectivité dans la préparation des pyrazoles déferrements substitués. Nous décrirons dans ce qui suit de

manière non-exhaustive, les méthodes de synthèse de dérivés du pyrazole rapportées dans la littérature.

IV.1. Réaction de cyclocondensation de l'hydrazine et ses dérivés

IV.1.1. Sur les 1,3-dicétones

La méthode de synthèse développée par Knorr est l'une des voies les plus répandues pour préparer le pyrazole, du fait de la disponibilité des précurseurs de la 1,3-dicétone et de l'hydrazine [41,42]. L'une des contraintes de cette approche est le mélange de régioisomère qui peut être obtenu à partir des substrats dissymétriques de la 1,3-dicétone [43].

Norris et *al.* ont décrit la synthèse des pyrazoles à partir de la réaction des 1,3-dicétones asymétriques et des arylhydrazines (*schéma III.1*) [44]. Les auteurs ont constaté que la réaction conduit à la formation d'un mélange de deux régio-isomères lorsqu'elle est effectuée dans l'isopropanol à 85 °C. Tandis que l'ajout des quantités catalytiques d'acide sulfurique concentré à 10% au mélange réactionnel, améliore la régiosélectivité. Aucun hydroxypyrazole n'a été détecté et les pyrazoles sont formés avec une parfaite régiosélectivité.

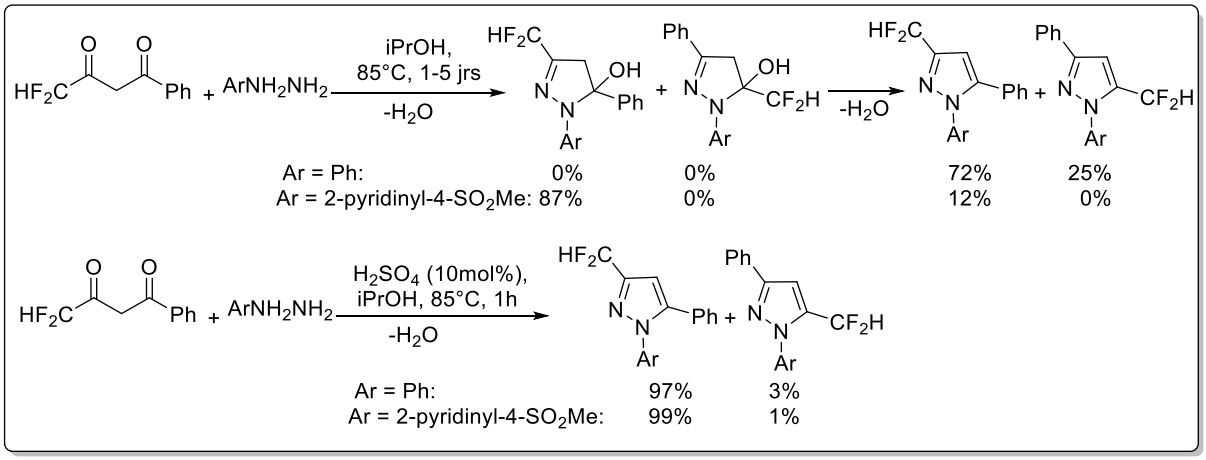


Schéma III.1

Dans une autre étude Gosselin et *al*. ont modifié la stratégie de Knorr, en utilisant le *N,N* diméthylacétamide (DMAc) comme solvant et une quantité catalytique de 50 % en moles d'acide chlorhydrique (10N) (*schéma III.2*) [45]. Les auteurs ont constaté que dans la cyclocondensation des chlorhydrates d'arylhydrazine avec les 1,3-dicétones, les solvants aprotiques donnent des meilleurs résultats que les solvants polaires et portiques tels que l'éthanol et l'acide acétique, qui sont généralement utilisés dans ce type de réaction. Ils ont montré que la régiosélectivité a été améliorée grâce à la catalyse acide jusqu'à 99,8/0,2.

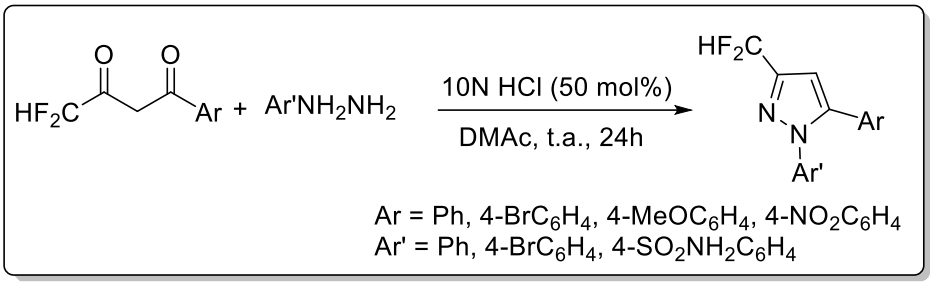


Schéma III.2

IV.1.2. Sur les composés carbonylés α,β-insaturés

Bayrak a rapporté la synthèse des dérivés du pyrazole via la réaction de cyclocondensation du chlorhydrate du 4-hydrazinylbenzènesulfonamide sur des aldéhydes *α,β*-éthyléniques en présence d'acide acétique dans le reflux d'éthanol [46]. Les composés pyrazoliniques intermédiaires ont été facilement oxydés par la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone (DDQ) dans le dichlorométhane pour fournir leurs analogues pyrazoliques (*schéma II.3*).

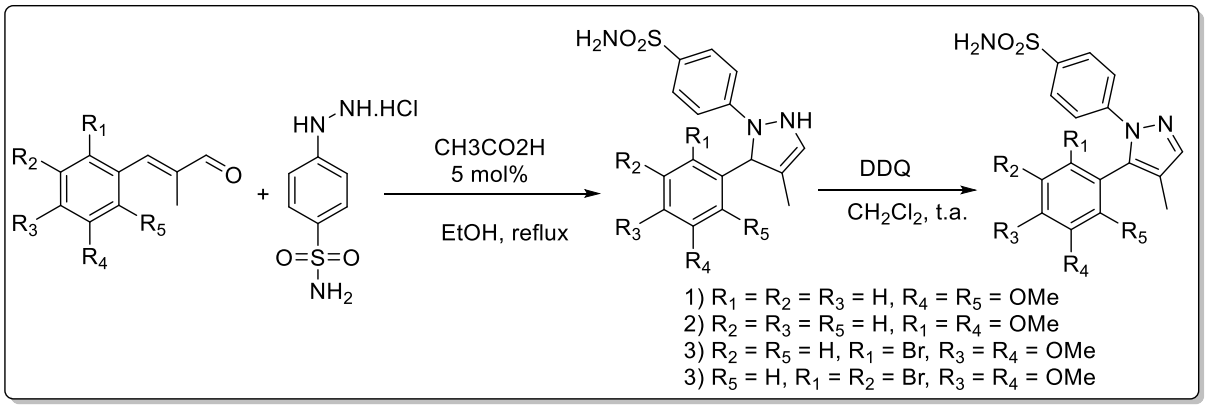


Schéma III.3

Une nouvelle stratégie récente a été développée pour la synthèse de N-sulfonylpyrazoles 3-substitués via des réactions de cyclisation des sulfonylhydrazines avec des *N,N*-diméthyl-énaminones catalysée par l'acide paratoluènesulfonique (APTS) [47]. Cette méthode permet d'obtenir des N-sulfonylpyrazoles 3-substitués avec des rendements modérés à bons et une bonne tolérance aux groupes fonctionnels (*schéma III.4*).

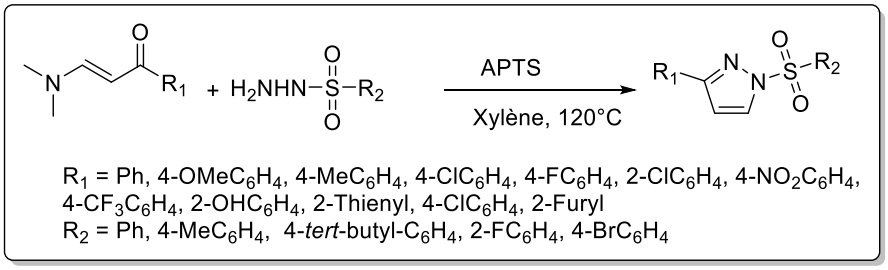


Schéma III.4

Les dérivés carbonylés *α,β*-acétyléniques à leur tour ont été utilisés dans la construction des pyrazoles. Leur réaction avec des arylhydrazines abouti souvent à la formation des régioisomères [48,49]. Récemment, l'équipe de Muzalevskiy a rapporté une approche sélective et sans métal des pyrazoles [50]. Les auteurs ont montré que la voie de la réaction des *α,β*-ynones avec des aryl ou alkyl hydrazines peut être dirigée sélectivement soit vers des 3-CF_3-pyrazoles soit vers des 5-CF_3-pyrazoles selon la nature du solvant. Les solvants protiques hautement polaires comme l'exemple de l'hexafluoroisopropanol favorisent la formation de 3-trifluorométhylpyrazoles. En revanche, lorsque la réaction est réalisée dans des solvants aprotiques polaires, le DMSO par exemple, la formation de l'isomère 5-CF_3-pyrazoles est préférentiellement favorisée. En outre, la formation régiosélective de pyrazoles substitués en 3-CF_3 peut être également effectuée par une procédure en deux étapes. La réaction de cétones *α,β*-acétyléniques avec des aryl ou alkyl hydrazines en présence de catalyseurs acides conduit à la formation des hydrazones, qui sont facilement transformées en pyrazoles 3-CF_3-substitués par traitement basique(*schéma III.5*).

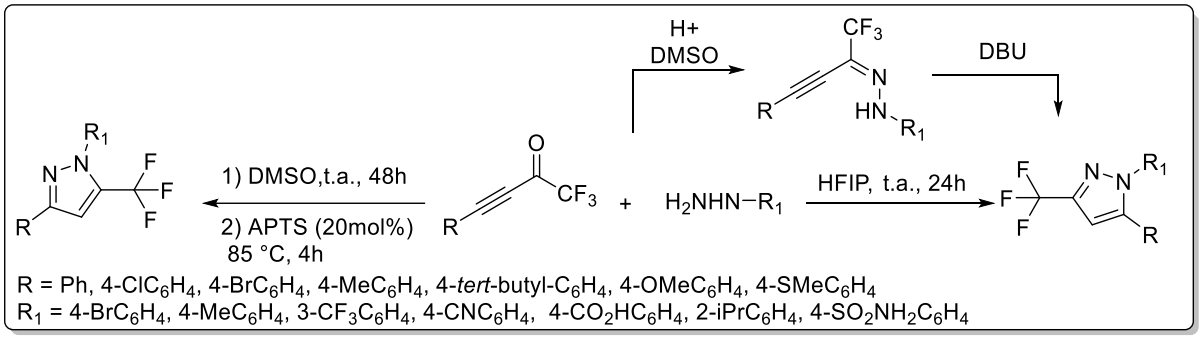


Schéma III.5

IV.2. Approche multicomposante

Récemment, Sangwan et *al*. ont publié une nouvelle voie de synthèse verte et efficace de pyrazoles via une réaction de condensation entre des aldéhydes substitués, le malononitrile et la 2,4-dinitrophényl hydrazine en présence de la gomme de guar acylée comme organocatalyseur dans des conditions sans solvant [35]. L'utilisation de l'approche multicomposante a permis de réaliser la synthèse des pyrazoles en une seule étape et d'une manière hautement régiosélective (*schéma III.6*). Dans une autre étude similaire, Moosavi-Zare et *al*. ont mis en réaction les même réactifs en présence du complexe de base de Schiff Zn[4-nitrophényl-salicylaldimine-pyranopyrimidinedione]Cl_2 comme catalyseur hétérogène efficace pour la synthèse régiosélective des dérivés de 5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitrile [51].

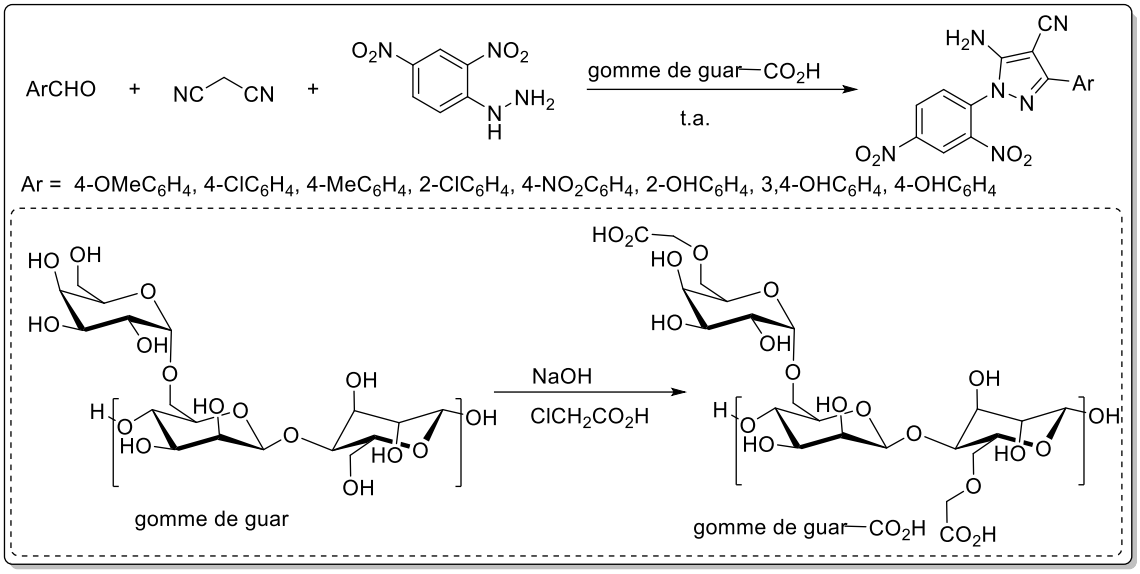


Schéma III.6

Magini et *al*. [52] ont récemment décrit une approche one pot comme synthèse efficace d'un ensemble de pyrazoles substitués via une réaction de cyclo-condensation d'aldéhydes, d'arylhydrazines avec des *β*-cétoesters en présence de peroxydisulfate de tétra-n-butylammonium $(TBA)_2S_2O_8$) comme catalyseur dans des conditions sans solvant (*schéma III.7*). Les auteurs ont montré que l'utilisation du $(TBA)_2S_2O_8$ comme catalyseur pour cette réaction présente plusieurs avantages, y compris une excellente régiosélectivité, un rendement élevé des produits et un temps de réaction plus court.

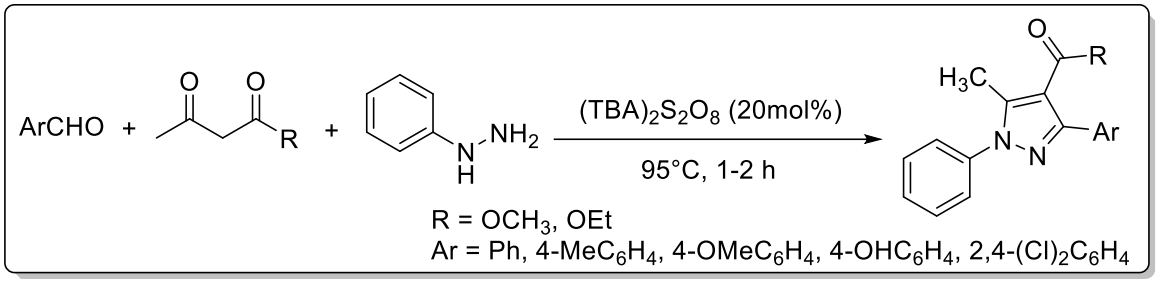


Schéma III.7

IV.3. Réactions de cycloaddition dipolaire-1,3

La réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 a été aussi utilisée comme l'une des méthodes de synthèse les plus efficaces pour obtenir à des pyrazoles substitués. Quelques exemples de dipôles-1,3 couramment utilisés dans la synthèse de composés pyrazoliques comprennent des composés diazoïques, des sydnones et des nitrilimines. Les dipolarophiles communs de ce processus sont les alcènes et les alcynes.

En comparaison avec la réaction classique de cyclocondensation entre les dérivés d'hydrazine et les 1,3-dicétones, dans laquelle la régiosélectivité repose sur la différence de réactivité des

deux groupes carbonyles, les cycloadditions dipolaires-1,3 sont principalement hautement régiosélectives.

IV.3.1. Réactions de cycloaddition avec des dipôles de type diazo

IV.3.1.1. Sur les alcynes

Ces dernières années, la cycloaddition dipolaire-1,3 des composés diazocarbonylés avec des alcynes est devenue un procédé très utilisé. Cependant, ces dipôles sont moins réactifs en raison de l'existence d'un groupement attracteur qui augmente l'écart d'énergie des HOMO-LUMO entre les composés diazocarbonylés et les alcynes. Pour surmonter ce problème, l'une des approches les plus couramment utilisée consiste à introduire des acides de Lewis pour baisser l'énergie de l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse vide (LUMO) du dipolarophile pour favoriser la réaction. Dans ce contexte, He et *al*. ont rapporté la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 entre des α-diazoacétates d'éthyle à des alcynes terminaux catalysée par $Zn(OTf)_2$ en présence de NEt_3 [53]. Cette méthodologie a permis la synthèse de pyrazoles carbonylés d'une manière régiosélective avec des bons rendements (*schéma III.8*).

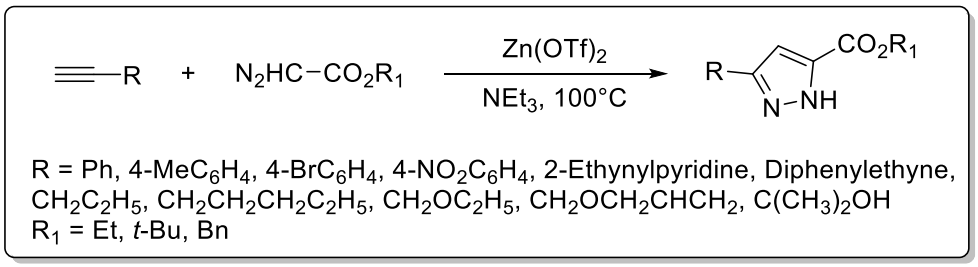


Schéma III.8

Dans un autre méthode, le réactif de Bestmann-Ohira (BOR) a été employé comme réactif de Horner-Wadsworth-Emmons et comme partenaire de cycloaddition pour la première fois [54]. La méthode implique la réaction de BOR avec les aldéhydes pour générer des acétylènes terminaux et la réaction subséquente de BOR avec les acétylènes générés *in situ* dans des conditions simples catalysées par Cu(I) pour générer des phosphonylpyrazoles (*schéma III.9*). L'utilisation d'une diazométhylsulfone au lieu du BOR comme partenaire de cycloaddition dans la deuxième étape permet également d'obtenir des sulfonylpyrazoles.

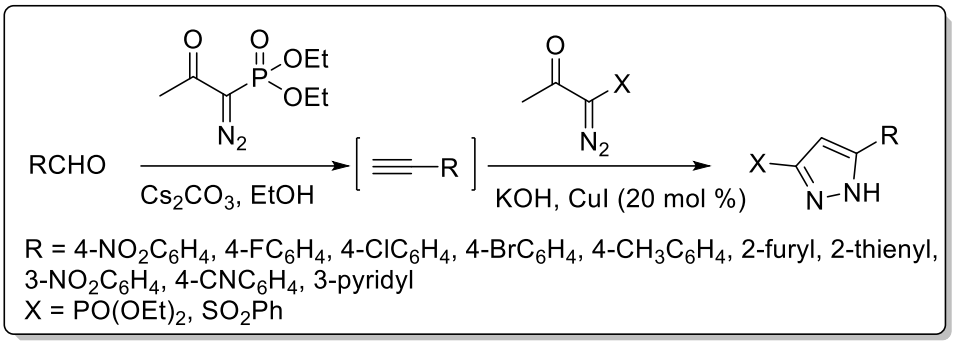


Schéma III.9

IV.3.1.2. Sur les chalcones et les alcènes

Les chalcones aboutissent aux composés pyrazoliques, lorsqu'elles sont engagées dans des réactions de cycloaddition avec les composés diazocarbonylés. La réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des composés diazo à savoir le diazoacétate [55], l'α-diazo-β-cétoester [56] et du réactif de Bestmann-Ohira [57] avec les cétones *α,β*-éthyléniques conduit à des pyrazoles fonctionnalisés avec une excellente régiosélectivité (*schéma III.10*).

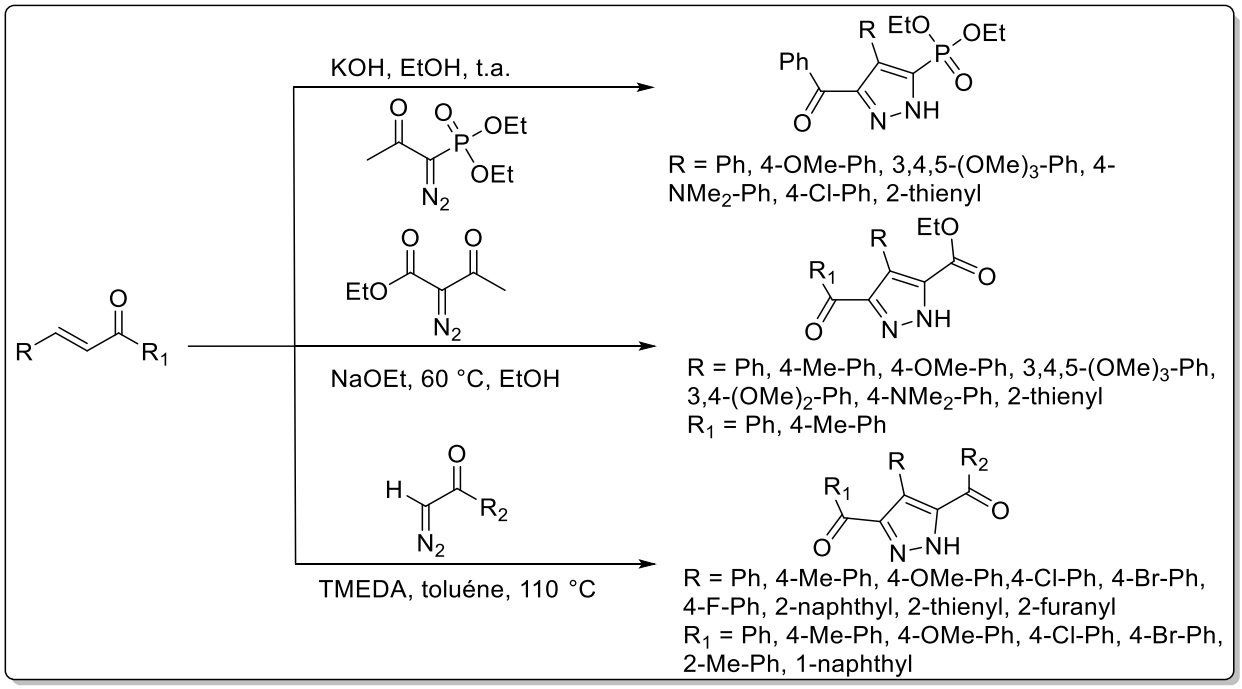


Schéma III.10

De même, la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de réactif de Bestmann-Ohira et d'*α*-diazo-*β*-cétosulfones en tant que dipoles-1,3 avec les nitroalcènes a été également étudiée. Les réactions ont été réalisées en présence d'une base nucléophile (NaOEt) dans un solvant protique (EtOH) à température ambiante. Ces approches conduisent à d'excellents rendements en phosphonylpyrazoles [58,59] et en sulfonylpyrazoles [60] en tant que des régioisomères uniques (*schéma III.11*).

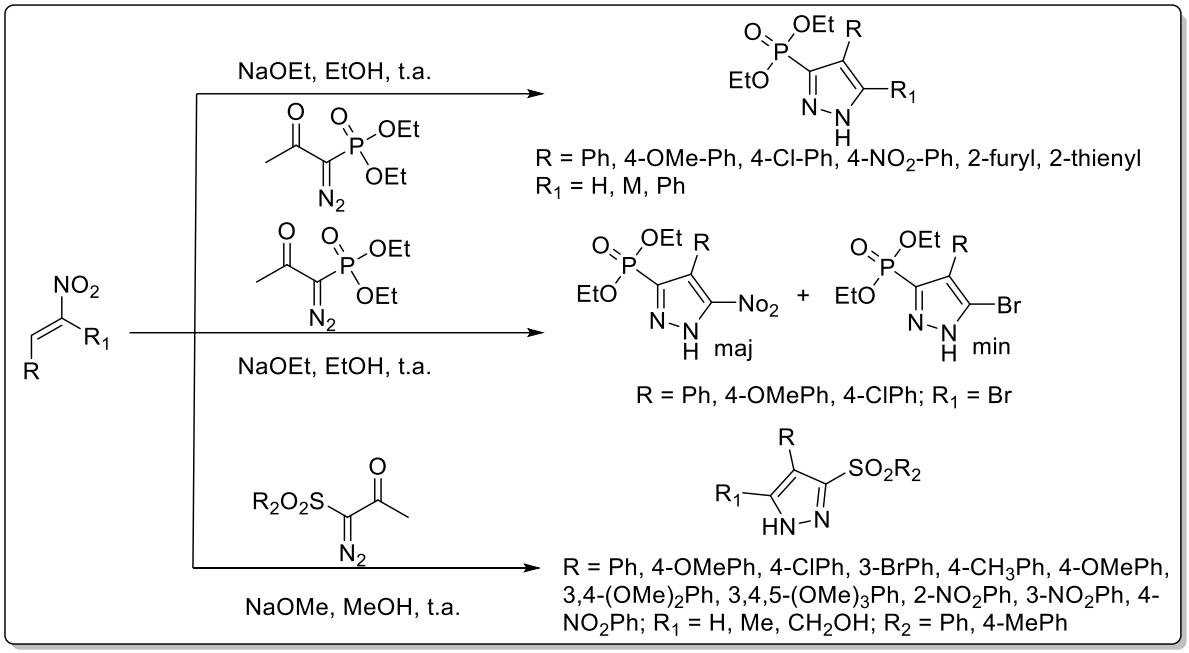


Schéma III.11

IV.3.2. Réactions de cycloaddition avec des sydnones

Les sydnones sont des composés mésoioniques relativement stables et facilement synthétisable (*schéma III.12*) [61]. Ces composés subissent une cycladdition dipolaire-1,3 avec des acétylènes déficients en électrons, en donnant lieu à des pyrazoles après élimination de dioxyde de carbone.

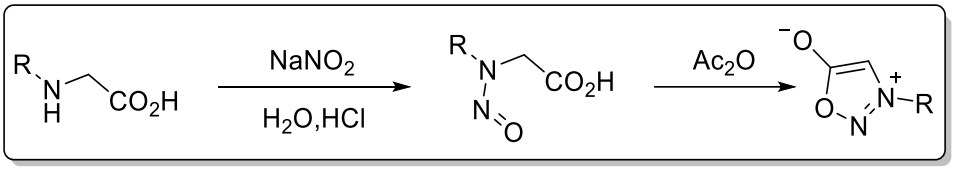


Schéma III.12

Les premières applications de la réaction de cycladdition dipolaire-1,3 des sydnones avec les propynoates d'éthyle non symétriques ont révélé que cette réaction se déroule avec des rendements modérés et conduit à un mélange de deux régioisomères pyrazoliques facilement séparables avec un rapport ~3:1 (*schéma III.13*) [49,62].

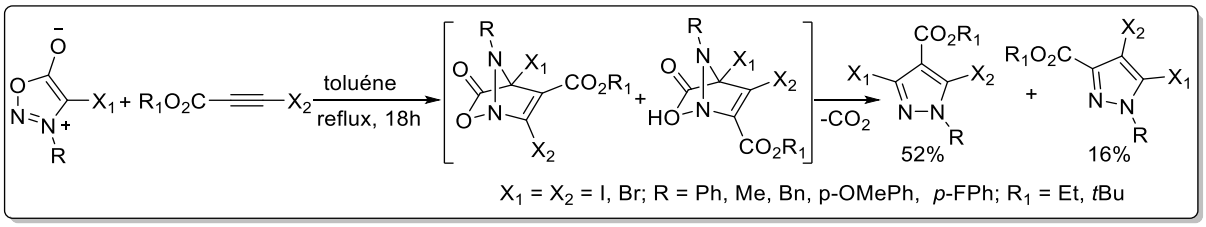


Schéma III.13

Au fil du temps, des méthodologies générales et efficaces ont été développées dans le but d'augmenter la régiosélectivité dans la préparation de pyrazoles substitués. Dans ce cadre, la cycloaddition dipolaire-1,3 des 3-arylsydnones avec des cétones *α,β*-acétyléniques et *α,β*-éthyléniques pour obtenir des pyrazoles a été rapportée [61,63]. Cette réaction est réalisée dans le xylène sec à reflux et fournie des pyrazoles 1,3,4-trisubstitués d'une manière hautement régiosélective avec des rendements élevés (*schéma III.14*).

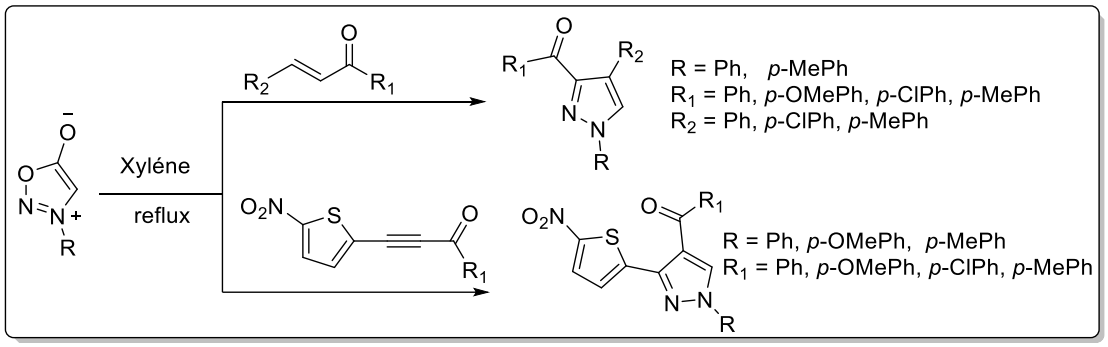


Schéma III.14

IV.3.3. Réactions de cycloaddition avec des nitrilimines

Les nitrilimines sont générées *in situ* par traitement des halogénures d'hydrazonoyle avec une base. La cycloaddition dipolaire-1,3 des nitrilimines avec les alcènes a été employée pour la synthèse des pyrazoles substitués depuis plusieurs décennies. Cette approche a été appliquée pour la synthèse régiosélective de plusieurs inhibiteurs puissants tels que le célécoxib et le rimonabant [64].

IV.3.3.1. Réaction avec les alcènes

Wang et *al*. ont utilisé des nitro-oléfines pauvres en électrons en tant que dipolarophiles dans la synthèse régiosélective des pyrazoles substitués au moyen d'une réaction de cycloaddition dipolaire-1 ,3 avec les nitrilimines générés *in situ* par l'action de carbonate de potassium sur les précurseurs bromés [65,66]. La réaction conduit régiosélectivement à des dérivés pyrazolines substitués après élimination spontanée du groupe nitro (*schéma III.15*).

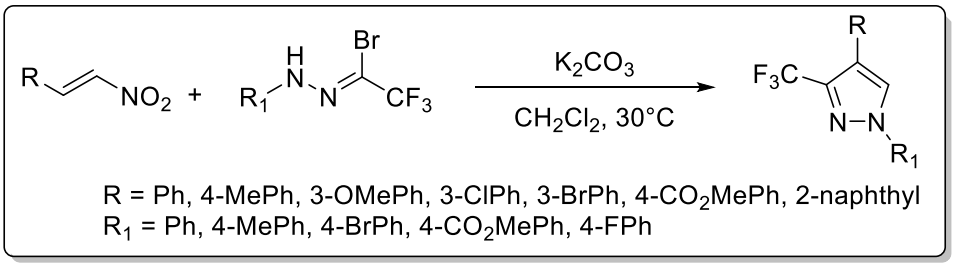


Schéma III.15

Une autre stratégie de synthèse régiosélective des pyrazole a été développée récemment par le groupe de Wang [67]. Ce procédé repose sur l'utilisation des dérivés d'allénoate en tant que dipolarophiles dans la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec le chlorure de *N*-phénylbenzohydrazonoyle précurseurs des nitrilimines (*schéma III.16*).

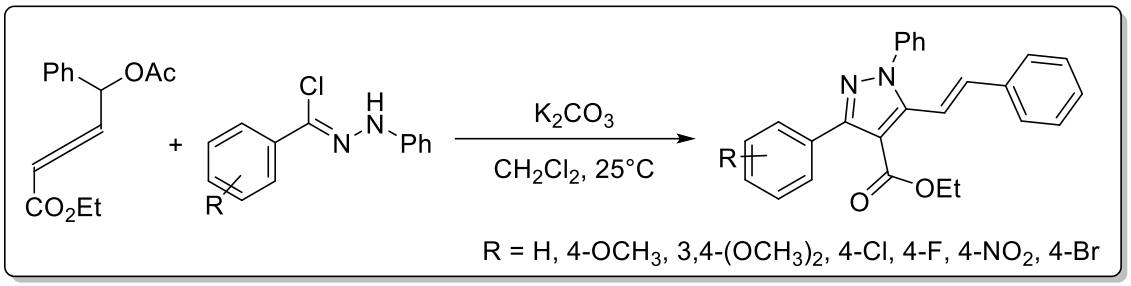


Schéma III.16

IV.3.3.2. Double liaison endocyclique

En 2016, Alizadeh et *al*. ont étudié le comportement des 3-formyl chromones vis-à-vis des nitrilimines générés *in situ* [68]. Les auteurs ont remarqué que la réaction aboutit à la synthèse régiosélective des dérivés de pyrazole après l'ouverture du cycle chromone (*schéma III.17*).

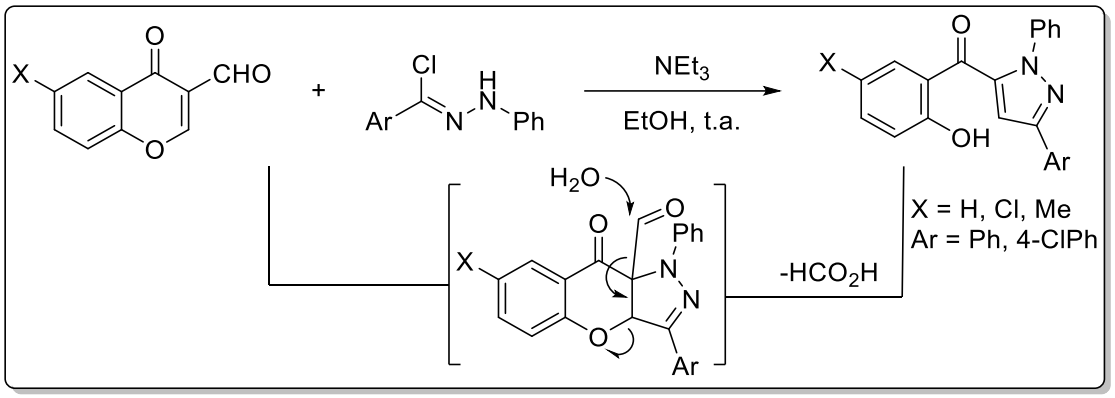


Schéma III.17

En 2018 Jasiński et *al*. [69] ont signalé que l'éther d'énol cyclique peut agir comme une contrepartie réactive efficace dans la réaction de cycloaddition avec les nitrilimines générés *in situ*. La réaction se déroule d'une manière régiosélective et conduit à la génération initiale de l'adduit bicyclique, qui se transforme aux pyrazoles après ouverture du cycle au niveau de l'atome de l'oxygène.

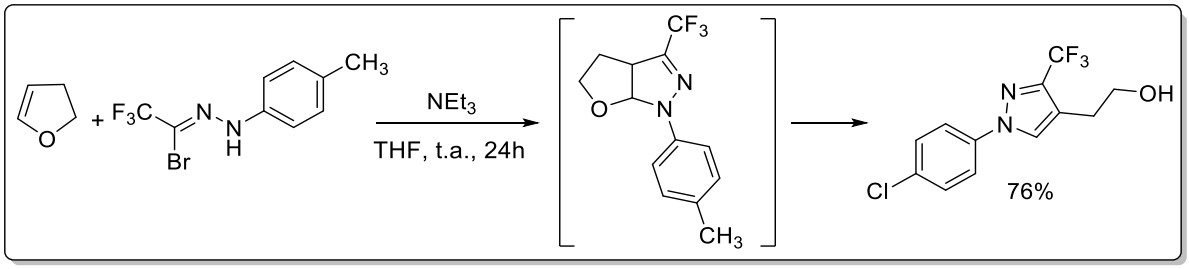


Schéma III.18

Dans d'autres études similaires, les auteurs ont soumis les cycloadduits issus de la condensation des nitrilimines respectivement sur les dipolarophiles de l'indole *N*-substitué, de benzofurane et de thiophène à l'action de l'acide chloridrique à chaud. Ils ont constaté que les cycloadduits subissent une ouverture au niveau des noyaux indoliques, benzofuranique et benzothiophénique pour donner des pyrazoles trisubstitués (*schéma III.19*) [70–72].

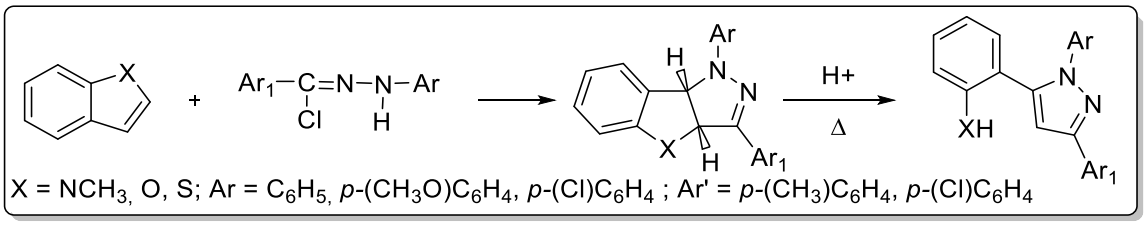


Schéma III.19

IV.3.3.3. Double liaison exocyclique

Les cycloadditions dipolaires-1,3 des nitrilimines avec les dipolarophiles offrent une option pour la construction des pyrazoles substitués [73]. Lorsqu'ils sont engagés dans la réaction avec les cétones *α,β*-insaturées exocycliques en tant que dipolarophiles conduisent souvent à des spiropyrazolines d'une façon hautement régiosélective [74]. Néanmoins, certains type de spiropyrazolines se transforment en leur analogues pyrazoliques soit dans le milieu réactionnel soit par l'action d'un catalyseur acide ou basique [75]. Nous citons ci-après quelques exemples :

Une stratégie très efficace pour la synthèse régiosélective des pyrazoles substitués a été développée [76]. Ce processus consiste à faire réagir les 3-arylidenes benzosultames avec les nitrilimines générés *in situ* à partir des chlorures d'hydrazonoyle sous l'action de carbonate de potassium. La cycloaddition dipolaire-1,3 aboutit à la formation des pyrazoles par transformation des spiropyrazolines instables dans le milieu réactionnel et élimination de SO_2 (*schéma III.20*).

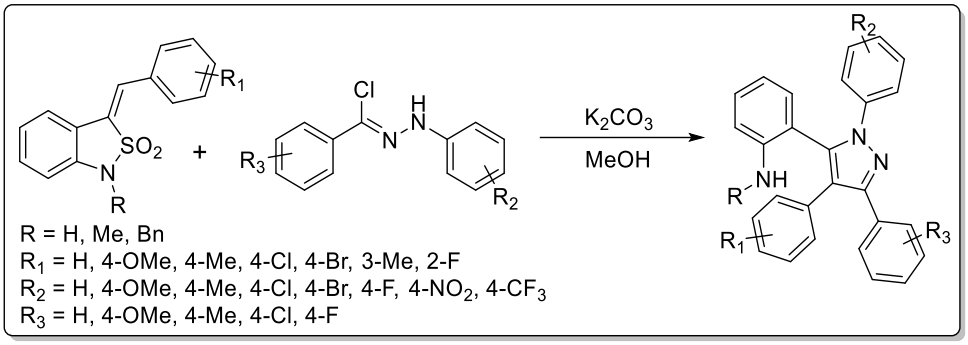


Schéma III.20

Un comportement pareil a été observé lors de la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 de 2-méthylène-1,3,3-triméthylindoline avec la nitrilimine préparée *in situ* à partir de précurseur chloré en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane. L'intermédiaire spiropyrazoline s'ouvre au niveau du cycle indolique, donnant ainsi des pyrazoles trisubstitués (*schéma III. 21*) [77].

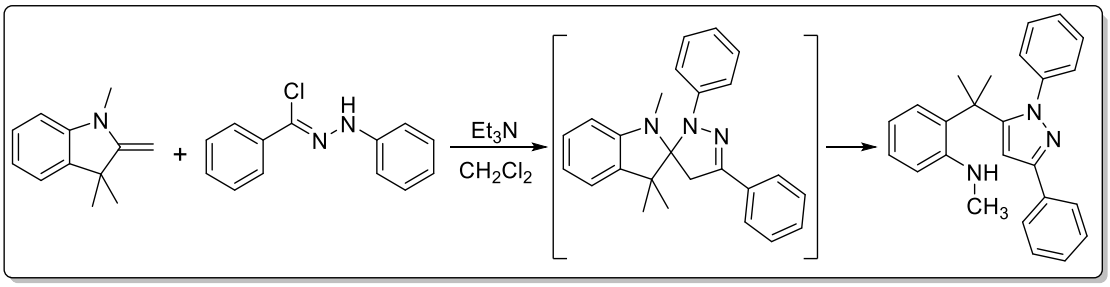


Schéma III.21

Dans d'autres études [78–80], les auteurs ont étudiés la réactivité des nitrilimines sur les dérivés des 2-arylidene-benzofuran-3-ones dans le but de synthétiser des composés tricycliques à jonction spiranique. Cependant dans les conditions habituelles de la cycloaddition, la réaction n'aboutit pas aux cycloadduits attendus. Ils ont montré que la réaction conduit à la formation des ortho-hydroxybenzoylpyrazoles après l'ouverture du cycle spiranique au niveau de l'atome d'oxygène, qui peut être considérée comme une élimination E_2 baso-catalysée et facilitée par la disparition des contraintes stériques dans la structure non spiranique (*schéma III.22*)

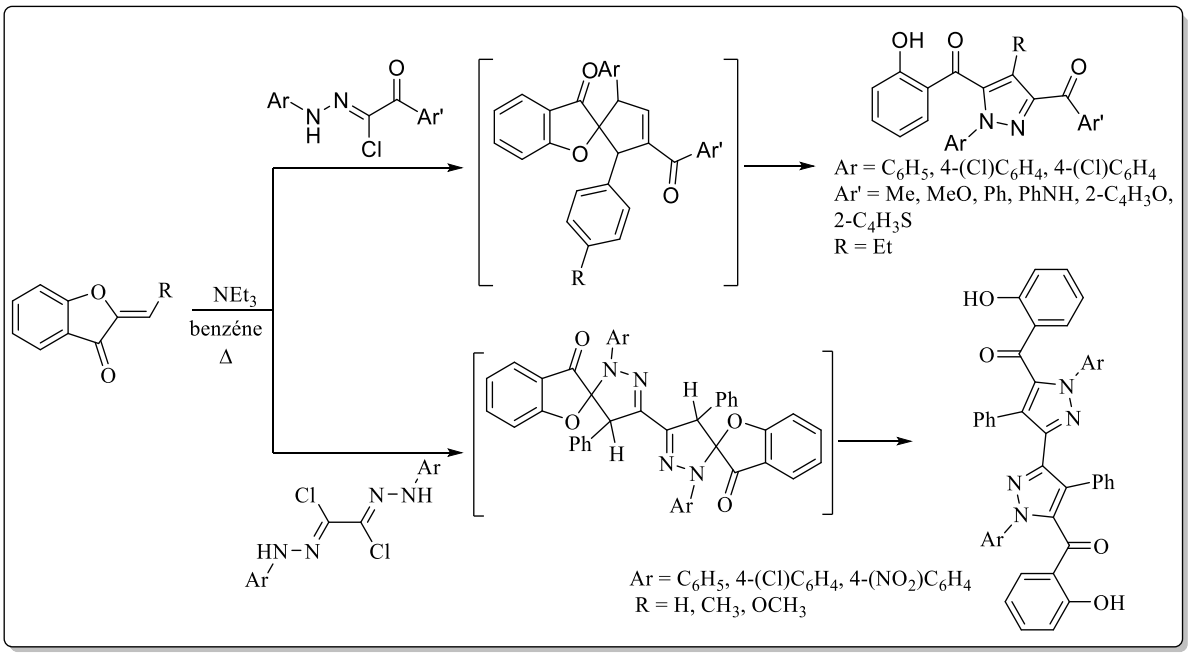


Schéma III.22

Boughaleb et *al*. [81] ont montré également que la réaction des *α*-chloroarylidène-phénylhydrazones sur les 2-arylidènebenzo[b]thiophèn-3(*2H*)-ones au reflux du toluène en présence de la triéthylamine ne conduit pas aux cycloadduits spiraniques, mais à un pyrazole tétrasubstitué après rupture du cycle thiophène au niveau de l'atome de soufre suivie d'une substitution nucléophile du proton thiophénique par une deuxième molécule de l'*α*-chloroarylidène-phénylhydrazones (*schéma III.23*).

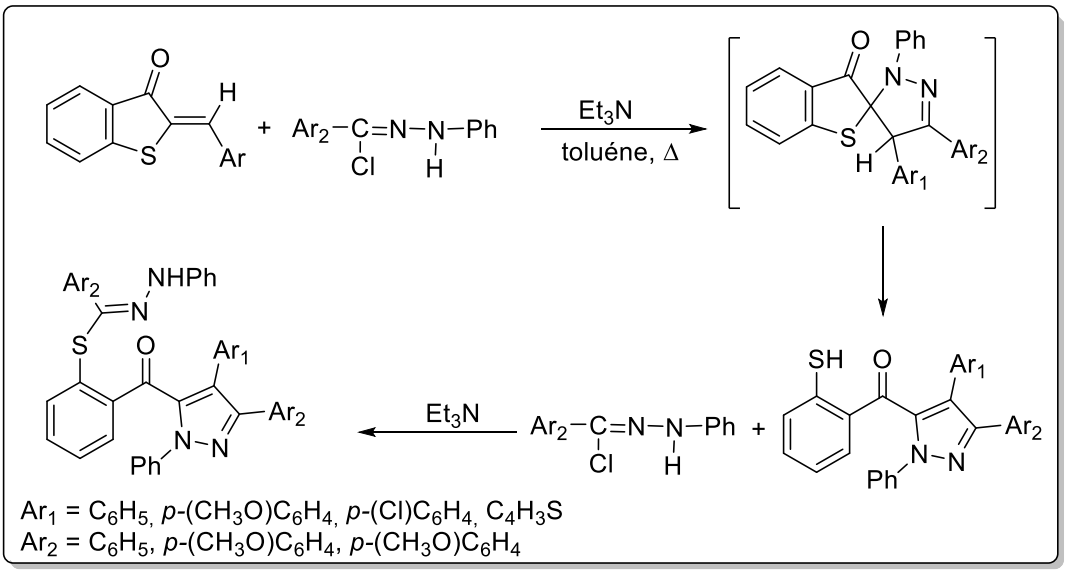


Schéma III.23

V. Synthèse des pyrazoles cibles

V.1. Synthèse des pyrazoles par transformation des spiropyrazolines

Pour notre part, et compte tenu des différents résultats rapportés dans la littérature, nous avons envisagé de synthétiser de nouveaux dérivés pyrazoliques à partir des spiropyrazolines déjà préparés. Nous avons commencé dans un premier temps par étudier le comportement des cycloadduits spiraniques résultants de la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des nitrilimines et des dérivés du (Z)-2-benzylidènebenzo[b]indolin-3(2*H*)-one (aza-aurone) en milieu acide et en milieu basique dans le but de déterminer les conditions optimales de leur transformation en pyrazoles [82].

Après un nombre important de tests, nous avons opté finalement pour un traitement acide pour des raisons de rendement et de temps réactionnel. Les spiropyrazolines **3*(a-i)*** préparés sont traités par l'acide chlorhydrique concentré dans un reflux d'éthanol. Le suivi de la réaction par chromatographie sur couche mince révèle l'évolution des composés spiraniques vers d'autres produits nouveaux que nous avons isolés et caractérisés par les méthodes spectroscopiques usuelles. L'étude des données spectroscopiques montre bien qu'il s'agit de la formation des pyrazoles tétrasubstitués via une ouverture au niveau du cycle indolin-3-one (*schéma III.24*).

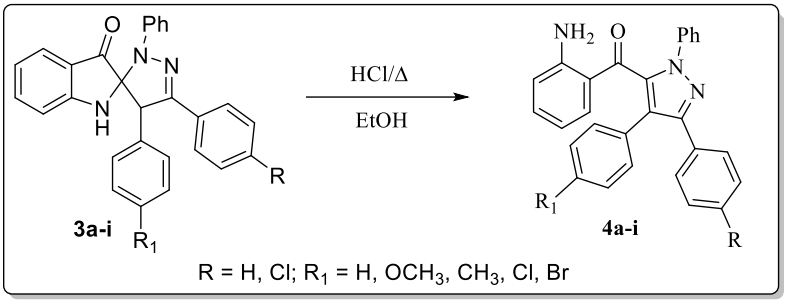


Schéma III.24. Voie de synthèse des 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4**(**a-i**)

Les caractéristiques physiques de tous les produits synthétisés **4**(**a-i**) sont rassemblées dans le *tableau III.1*

Tableau III. 1. Propriétés physiques des produits obtenus **4**(**a-i**)

N°	R	R_1	P.F (°C)	Rdt (%)
4a	-	-	142-144	88
4b	Cl	-	176-178	80
4c	-	OCH_3	110	60
4d	Cl	OCH_3	170-172	76
4e	-	CH_3	180-182	68

4f	-	Cl	156-158	70
4g	Cl	Cl	204-206	63
4h	-	Br	196-198	66
4i	Cl	Br	190-192	72

Nous avons attribué aux produits **4**, la structure impliquant l'ouverture des cycloadduits spiraniques au niveau de l'atome d'azote du noyau indolin-3(2*H*)-one. Cette ouverture résulte d'une élimination synchrone de l'hydrogène en position 4 du cycle pyrazolique et de la rupture de la liaison $C_{52'}$-NH et abouti à la formation des 5-(2-aminobenzoyl)-3,4-diaryl-1-phénylpyrazoles **4**. La structure des pyrazoles **4** a été établie sur la base des données spectrales usuelles.

En effet, les spectres IR (*figure III.9*) révèlent l'apparition de deux bandes d'absorption qui varient entre 3200 et 3420 cm^{-1} caractéristiques d'une amine primaire, et une bande d'absorption vers 1600 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la fonction C=O.

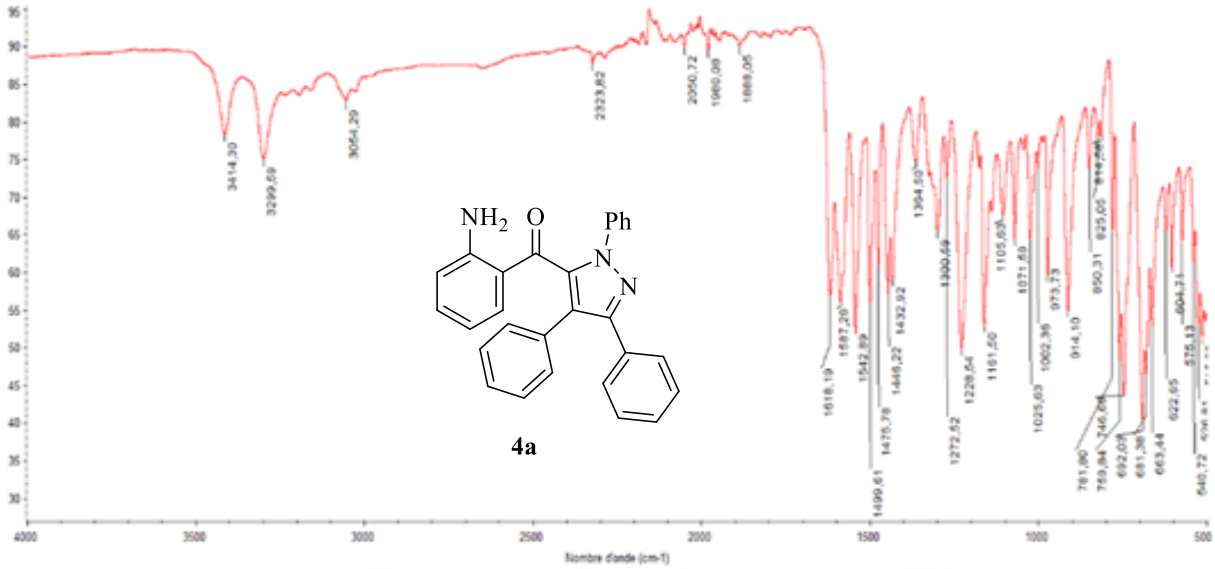


Figure III.9. Spectre IR du composé **4a**

Sur les spectres RMN-^{1}H (*figure III.10*) des composés **4** on observe l'apparition d'un signal singulet large vers 6,80 ppm intégrant deux protons relatifs aux protons de la fonction amine (NH_2) et la disparition du signal attribué aux protons benzyliques H_4 (5 ppm). Ces données spectroscopiques montrent que les cycloadduits soumis à l'action de l'acide à chaud subissent une ouverture du noyau indolinonique au niveau de l'atome d'azote comme il a été signalé pour les cycladduits indoliques [70–72]. Le même comportement est observé dans le cas de leurs analogues les aurones et les thiorauones dont la cycloaddition avec les mêmes dipôles aboutit dans les mêmes conditions à des pyrazoles tétrasubstitués après transformation du

cycloadduit spiranique instable au milieu basique via l'ouverture du cycle furane et thiophène au niveau des atomes de l'oxygène et de soufre [78–80,83].

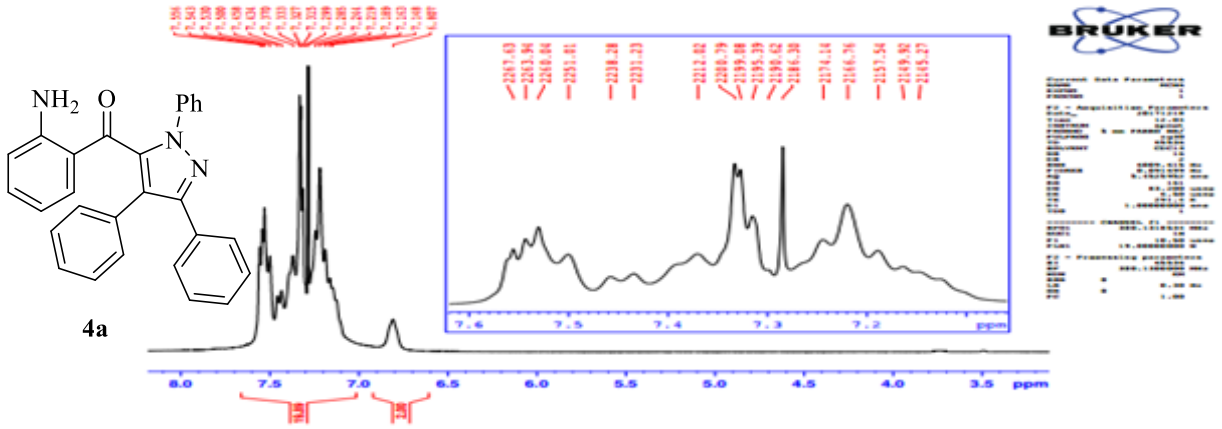


Figure III.10. Spectre RMN-^{1}H du composé **4a**

Sur les spectres RMN-^{13}C (*figure III.11*) des mêmes produits on note la disparition des signaux attribués aux carbones C_4 à 60 ppm et $C_{5:2'}$ à 80 ppm, accompagnée d'un blindage du signal attribué au carbone du groupement carbonyle de l'ordre de 10 ppm. La diminution observée dans le déplacement chimique de la fonction carbonyle C=O peut s'expliquer par le changement de la tension du cycle indolinonique. La valeur enregistrée vers 189 ppm est en bon accord avec les données de la littérature [70–72,78,80].

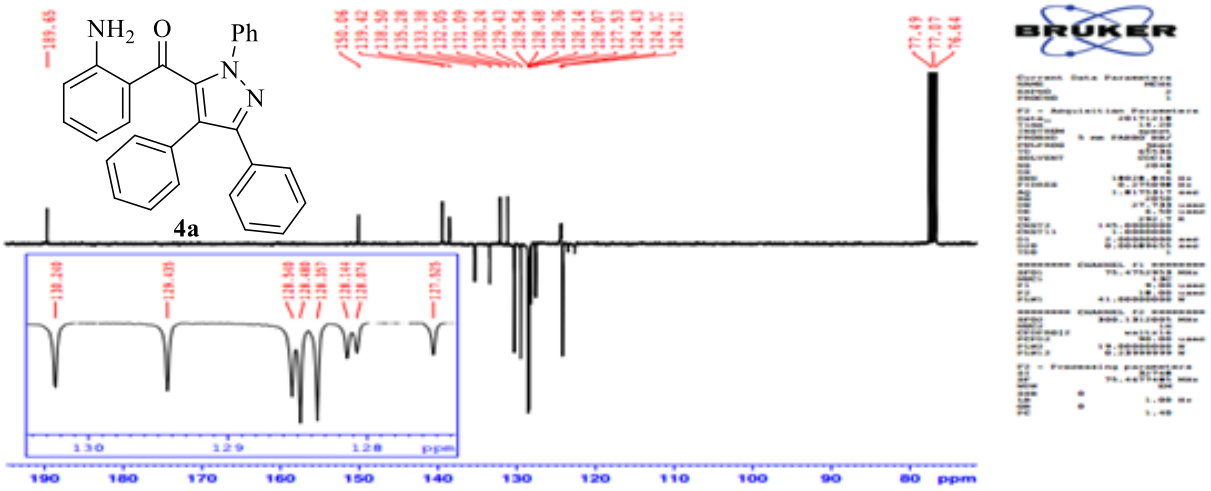


Figure III.11. Spectre RMN-^{13}C du composé **4a**

En se basant sur les résultats des donnés spectroscopiques, Nous avons constaté que ces réactions de transformation des spiropyrazolines par l'action de l'acide à chaud commencent par une protonation de l'amine secondaire. Ensuite, l'intermédiaires protoné au cours de la réaction subit une coupure du cycle indolinonique accompagnée de la formation d'une double

liaison entre les carbones 4 et 5 du pyrazole. Le mécanisme général proposé pour l'obtention des pyrazoles tétrasubstitués est représenté dans le *schéma III.25*.

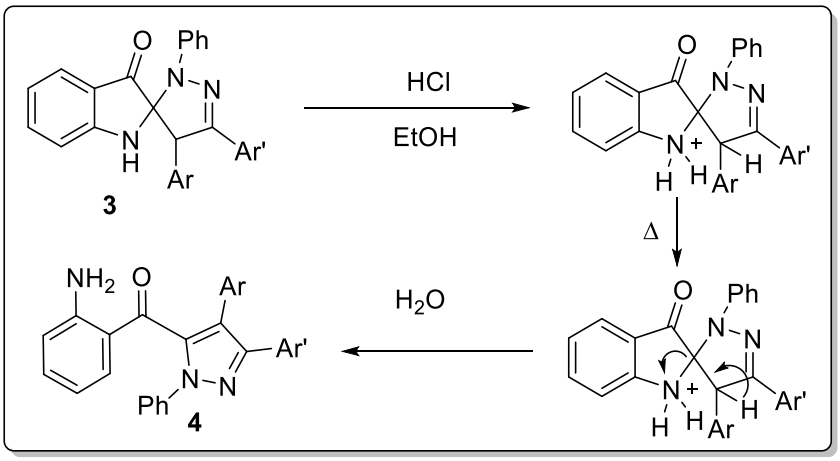


Schéma III.25. Mécanisme général proposé

La structure des pyrazoles préparés a été confirmée sans ambigüité par diffraction des rayons X. Les monocristaux convenables du composé **4f** ont été obtenus par évaporation lente à la température ambiante d'une solution $EtOH/CH_2Cl_2$ et un cristal adéquat pour la détermination de la structure cristalline a été choisi.

Les études cristallographiques réalisées montrent que le composé **4f** cristallise dans un système monoclinique avec un groupe d'espace $P2_1/n$ [84]. L'analyse des résultats obtenus, montre clairement que l'unité asymétrique du composé **4f** est constituée d'un cycle pyrazole lié à quatre substituants : deux phényles, un chlorophényle et un aminobenzoyle, comme le montre la représentation ORTEP de la structure donnée dans la *figure III.12*.

Formule chimique	$C_{28}H_{20}ClN_3O$
Masse (g/mol)	449,92
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	$P2_1/n$
a *b* *c* (Å)	8,4100 (6), 16,2156 (10), 16,8421 (11)
β (°)	93,563 (2)
V (Å^3)	2292,4 (3)

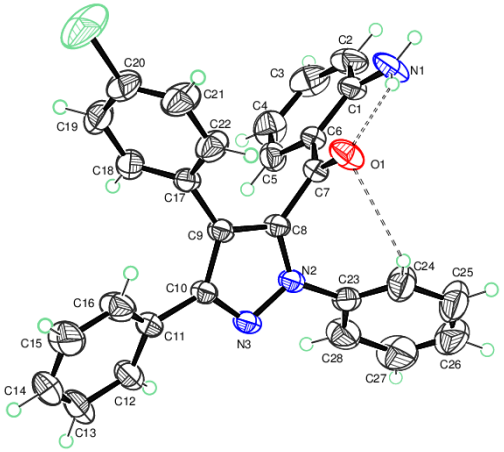


Figure III. 12. Quelques données cristallographiques et représentation ORTEP de la structure du composé **4f** ($C_{28}H_{20}ClN_3O$). Les ellipsoïdes thermiques correspondent à 40 % de probabilité.

La structure tridimensionnelle cristalline du composé **4f** montre que le plan du cycle pyrazole est presque perpendiculaire à celui du groupe amino-benzoyle comme le montre l'angle dièdre entre les deux noyaux de 81,68(10)° et un angle dièdre de 56,04(10)° avec le substituant *p*-chlorophényle. Les angles dièdres entre le plan pyrazole et les deux cycles phényles (C11 à C16) et (C23 à C28) sont respectivement de 27.68(11)° et 46.45(12)°. Le plan amino-benzoyle est également perpendiculaire à celui contenant le cycle *p*-chlorophényle avec un angle dièdre de 84,47(11)° et forme un angle de 70,45(12)° avec le cycle phényle adjacent (C23 à C28) [84]. De plus, dans l'empilement tridimensionnel de la structure, les molécules sont reliées entre elles à travers des liaisons hydrogènes (N1—H1A···N3, C15—H15···O1) et également par de faibles interactions de type π-π entre les cycles aromatiques et le pyrazole adjacent et C19—H19···π (*tableau III.2*). Ces contacts inter- et intramoléculaires assurent la cohésion et la stabilité de l'édifice cristallin pour former un réseau tridimensionnel comme le montrent la *figure III.13*.

Tableau III.2. Longueurs (Å) et angles de liaisons (°) hydrogène dans la structure du composé pyrazolique étudié.

D*—H···*A	***D*—H (Å)**	**H···*A* (Å)**	***D*···*A* (Å)**	***D*—H···*A* (°)**
N1—H1*A*···N3^{i}	0,86	2,33	3,138 (2)	156
N1—H1*B*···O1	0,86	2,01	2,657 (2)	131
C15—H15···O1^{ii}	0,93	2,57	3,473 (3)	164
C24—H24···O1	0,93	2,73	3,391 (3)	129
N1—H1*B*···Cl1^{iii}	0,86	2,94	3,489 (2)	124

Codes de symétries : (i) *x*-1/2, -*y*+3/2, *z*-1/2; (ii) -*x*+3/2, *y*-1/2, -*z*+1/2; (iii) -*x*+1, -*y*+1, -*z*.

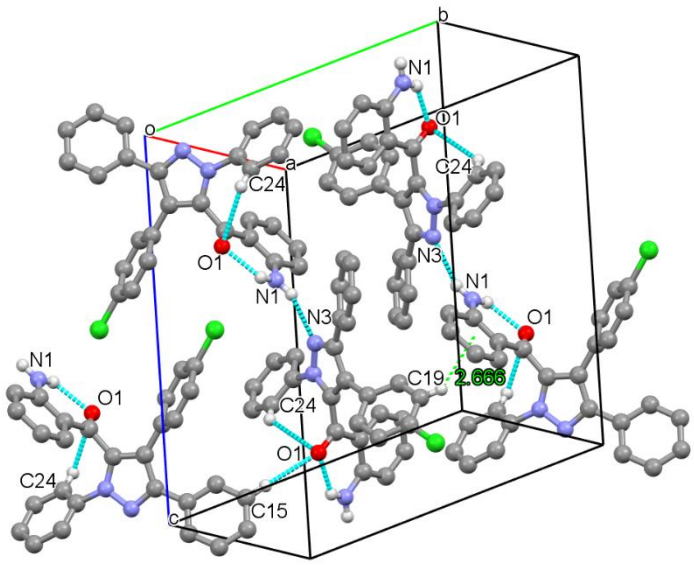


Figure III.13. Empilement cristallin du composé **4f** montrant des molécules interconnectées par des contacts C—H···π et des liaisons hydrogène.

Encouragés par les résultats obtenus au niveau rendement et temps de réaction, nous avons envisagé dans un deuxième temps de fonctionnaliser et substituer les différents pyrazoles **4(a-i)** obtenus par traitement acide des spiropyrazolines **3(a-i)** à l'aide des réactions de *N*-alkylation, *N*-acylation et *N*-sulfonation (*schéma III.26*) dans le but de préparer une chimiothèque de nouveaux dérivés du pyrazole, qui feront l'objet de tests biologiques dans ce chapitre par la suite.

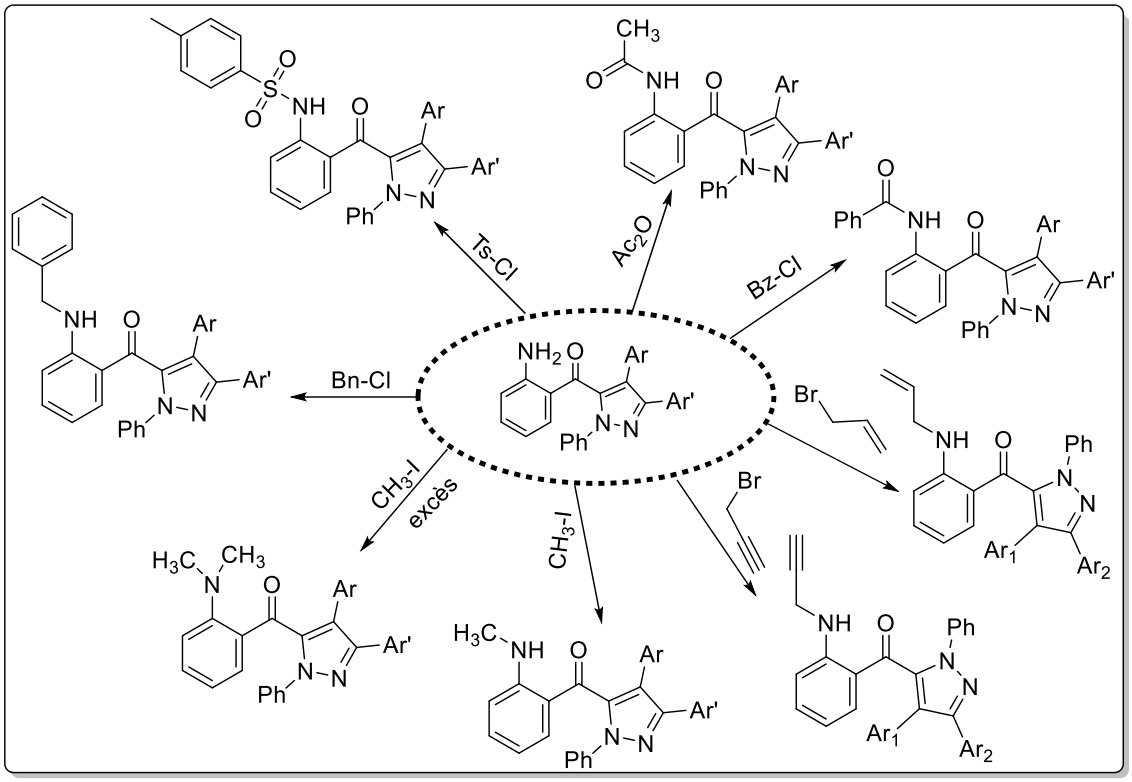


Schéma III.26. Fonctionnalisation et *N*-alkylation des 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4(a-i)**

V.2. Synthèse des pyrazoles *N*-alkylés

L'ensemble des propriétés potentielles que présentent les systèmes pyrazoliques, nous a incité à développer nos recherches dans ce domaine afin de synthétiser de nouvelles molécules susceptibles de présenter des propriétés biologiques remarquables. En vue de préparer de nouveaux composés pyrazoliques *N*-alkylés, nous nous sommes intéressés dans cette partie à exploiter la réactivité des produits d'ouverture obtenus 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4**(**a-d**) en tant que synthons vis-à-vis des différents agents d'alkylations [85]. Les composés ciblés **5-10** ont été synthétisés selon le chemin réactionnel décrit dans le *schéma III.27*.

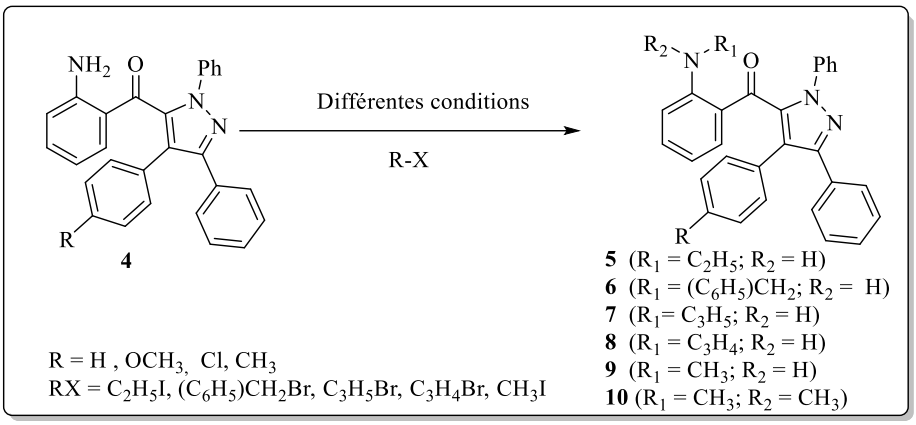


Schéma III.27. Voie de synthèse

Afin d'améliorer le rendement et le temps de la réaction d'alkylation, les conditions ont été optimisées en fonction du solvant, de la température et de la nature de la base. Nous avons pris comme modèle l'alkylation du 5-(2-aminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole par l'iodure d'éthyle. Les résultats obtenus sont illustrés dans le *tableau III.3*. Ces derniers montrent que la N-alkylation du 5-(2-aminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole **5a** (*schéma III.28*) par l'iodure d'éthyle est optimale au niveau rendement et temps réactionnel dans le cas du DMF comme solvant et NaH comme base à température ambiante.

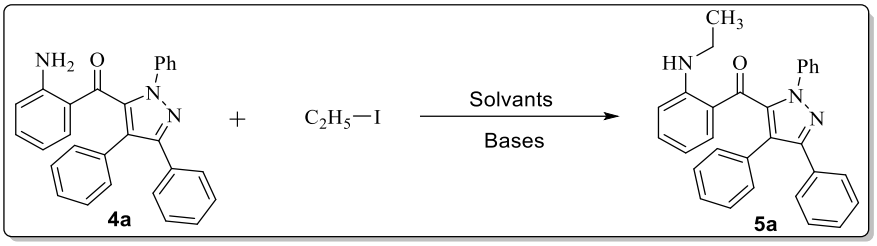


Schéma III.28. Réaction modèle

Tableau III.3. Optimisation des conditions de la réaction pour la synthèse de **5a**.

Entrée	Solvants	Bases	Temps[a]	T (C°)	Rdt(%)[b]
1	CH_3CN	K_2CO_3	72	ambiante	55
2	CH_3CN	K_2CO_3	30	reflux	40
3	DMF	K_2CO_3	36	ambiante	69
4	DMF	K_2CO_3	26	reflux	53
5	DMSO	K_2CO_3	33	ambiante	65
6	DMSO	K_2CO_3	20	reflux	45
7	Acétone	K_2CO_3	> 72	reflux	Traces
8	MeOH	K_2CO_3	> 72	ambiante	-[c]
9	MeOH	K_2CO_3	> 72	reflux	-
10	2-Butanol	K_2CO_3	> 72	ambiante	-
11	2-Butanol	K_2CO_3	> 72	reflux	Traces
12	CH_3CN	NaOH	20	ambiante	70
13	DMF	NaOH,	9	ambiante	84
14	DMSO	NaOH	11	ambiante	76
15	Acétone	NaOH	> 48	ambiante	-
16	CH_3CN	NaH	13	ambiante	83
17	**DMF**	**NaH**	**4**	**ambiante**	**92**
18	DMSO	NaH	6	ambiante	84

La condition optimale pour le choix de la condition de réaction est indiquée en gras
Conditions de réaction : 5-(2-aminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (**4a** , 1 équiv.), C_2H_5I (1 équiv.), BTBA (0,5 équiv.).
[a] Temps rapporté en heure et contrôlé par chromatographie sur couche mince (CCM)
[b] Rendements en produits isolés.
[c] Pas de réaction

Après optimisation des conditions opératoires de la réaction d'alkylation, nous avons repris cette réaction en utilisant différents agents d'alkylation vis-à-vis d'une variété de composés

pyrazoliques pour former une nouvelle série de dérivés pyrazoliques *N*-substitués avec des bons rendements. Nous avons aussi examiné la possibilité de la N-dialkylation du groupement amino en utilisant deux équivalents (2 équiv) de l'agent alkylant contre un équivalent de pyrazole, les résultats ont montré que seul le produit monoalkylé est obtenu avec des bons rendements et des temps réactionnels courts sauf dans le cas de l'iodure de méthyle où la réaction a donné le produit dialkylé. Résultat qui peut être attribué aux effets stériques des substituants alkyles. Les structures de tous les produits préparés ont été établies par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN^{1}H et RMN^{13}C) et par la spectroscopie de masse à haute résolution (HRMS).

A titre d'exemple, le spectre IR du composé **5a** montre l'apparition d'une bande d'absorption attribuable à la vibration de la liaison N–H de l'amine secondaire vers 3316 cm^{-1}, et la disparition de deux bandes d'absorptions vers 3299 cm^{-1} et 3414 cm^{-1} caractéristiques de la vibration de la liaison N–H de l'amine primaire (NH_2) du composé **4a** [86] (*figure III.14*).

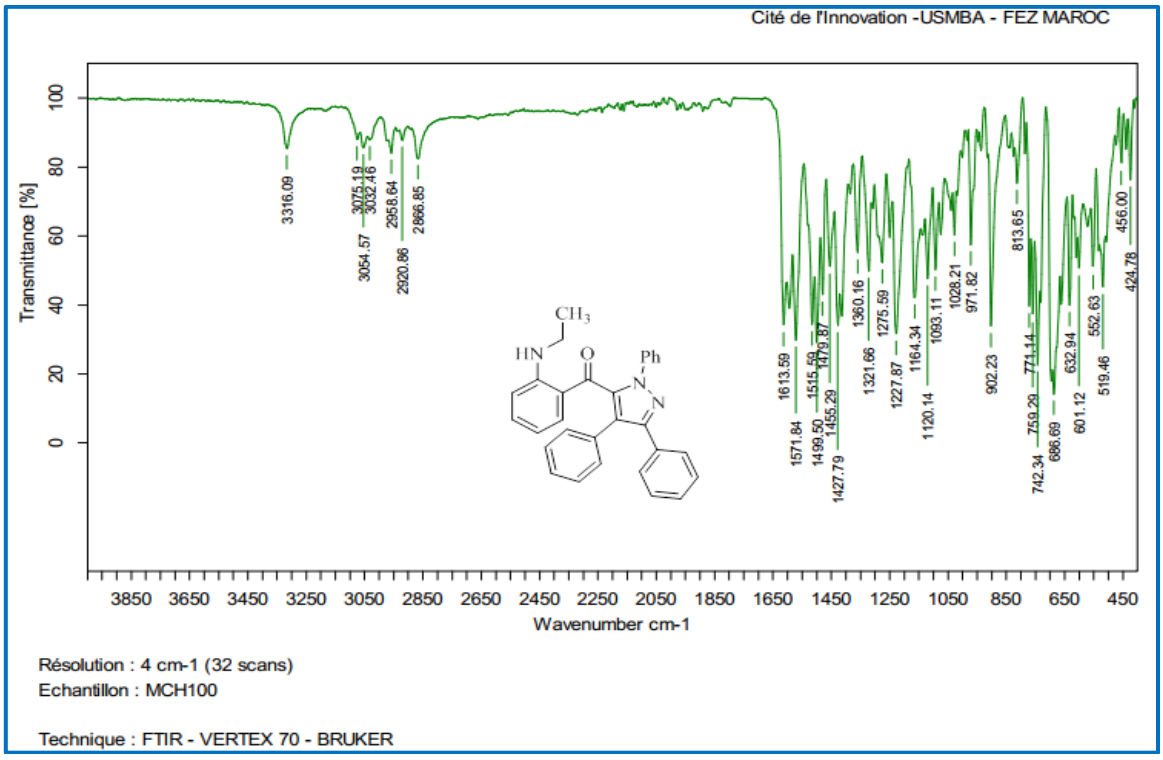


Figure III.14. Spectre IR du composé **(5a)**

Sur le spectre RMN du proton du même composé **5a** on observe la disparition d'un signal singulet large centré à 6,8 ppm correspondant aux protons de l'amine primaire du composé **4a** [86], et l'apparition d'un signal triplet à 8,72 ppm relatif au proton de l'amine secondaire NH (*figure III.15*). On relève aussi en plus des signaux caractéristiques aux protons aromatiques la

présence d'un signal triplet à 1,32 ppm et d'un multiplet entre 3,22 et 3,31 ppm correspondants respectivement aux protons CH_3 et CH_2 du groupement éthyle.

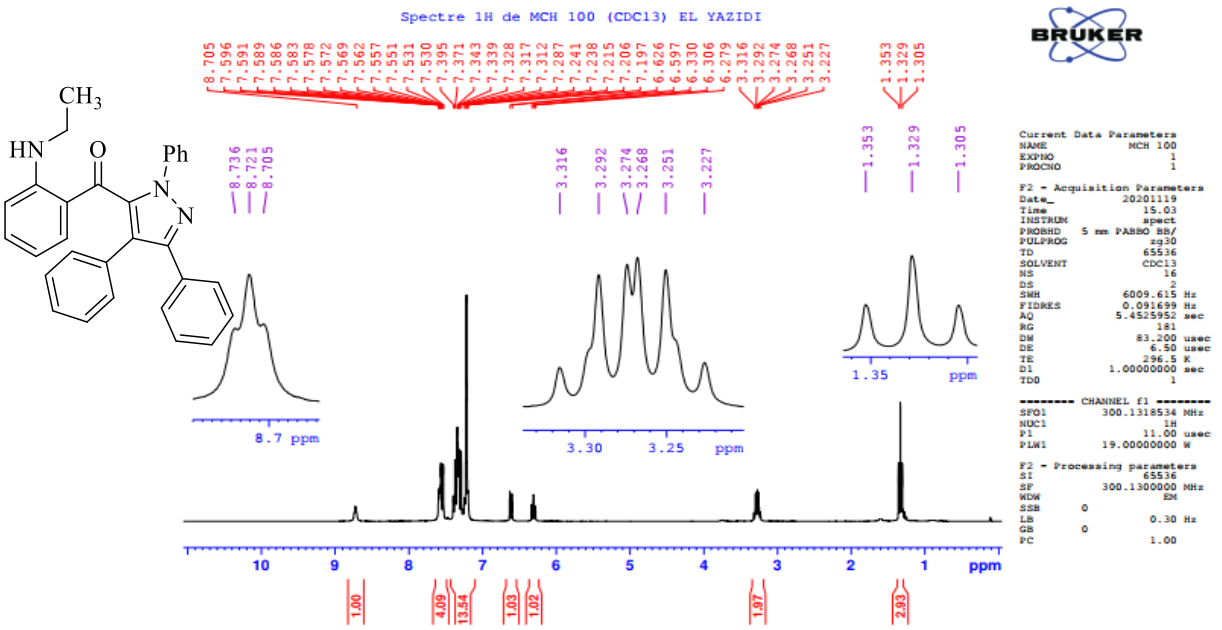


Figure III.15. Spectre RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) du composé **(5a)**

De même, sur le spectre RMN ^{13}C du même produit on note l'apparition de deux signaux situés à 14,4 ppm et 37,2 ppm des deux carbones du radical éthyle. Le carbone du groupement carbonyle résonne à 190 ppm (*figure III.16*).

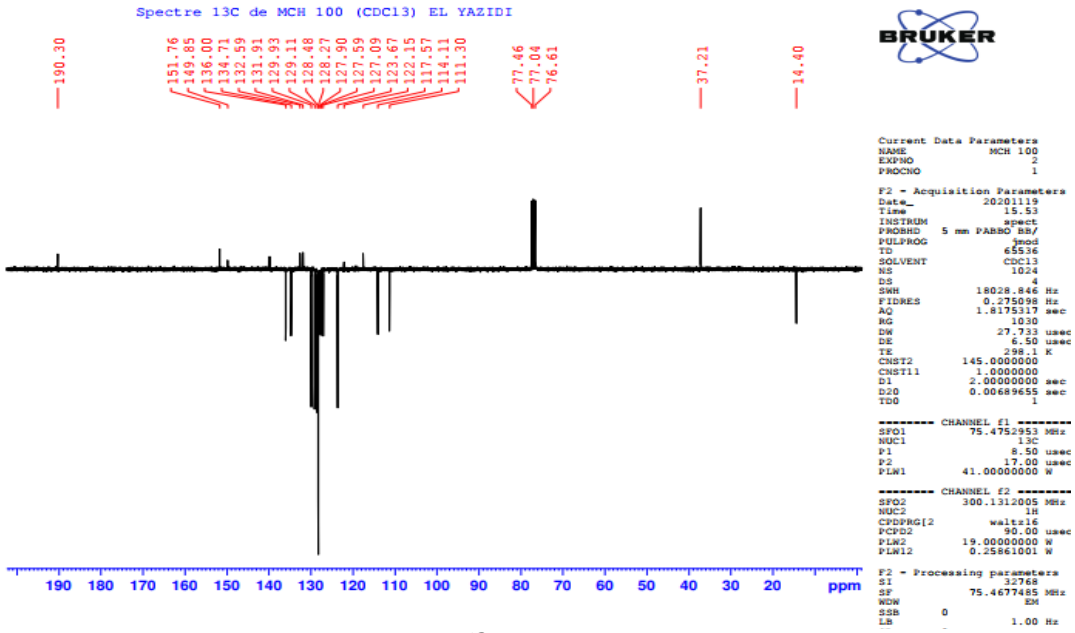


Figure III.16. Spectre RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) du composé **(5a)**

La structure du pyrazole **5a** a également été confirmée par spectrométrie de masse à haute résolution. Le spectre de masse du composé **5a** montre un pic de l'ion moléculaire protoné

$[M+H]^+$ à m/z = 444,2088 (*figure III.17*), ce dernier subit principalement cinq fragmentations comme indiqué dans le *schéma III.29*.

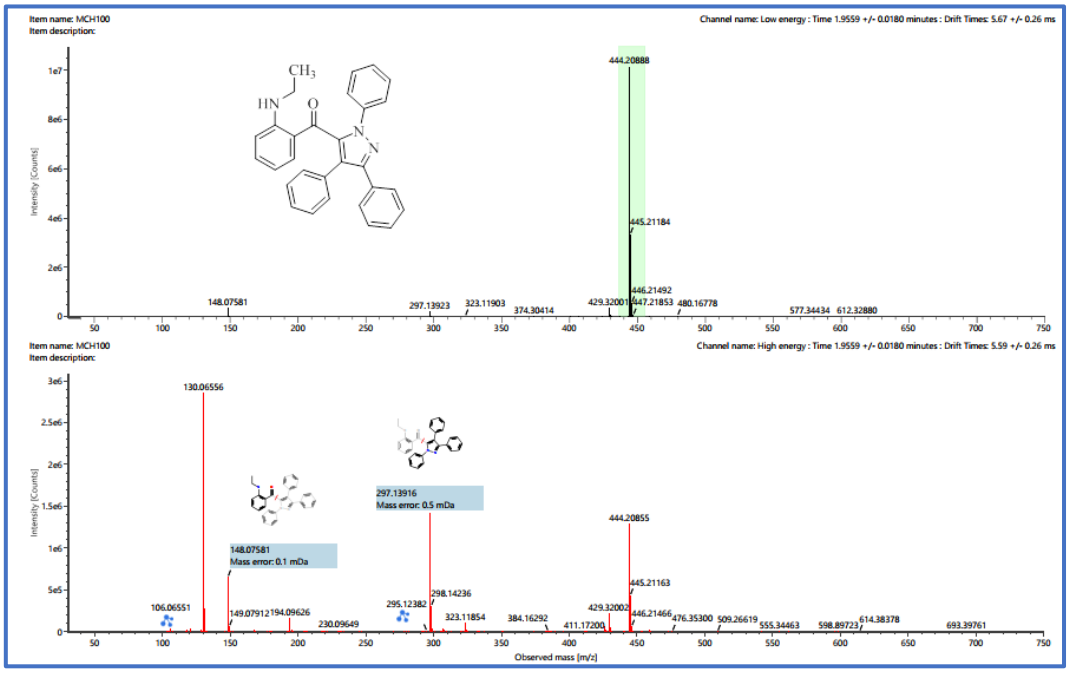


Figure III.17. Spectre de masse du composé **(5a)**

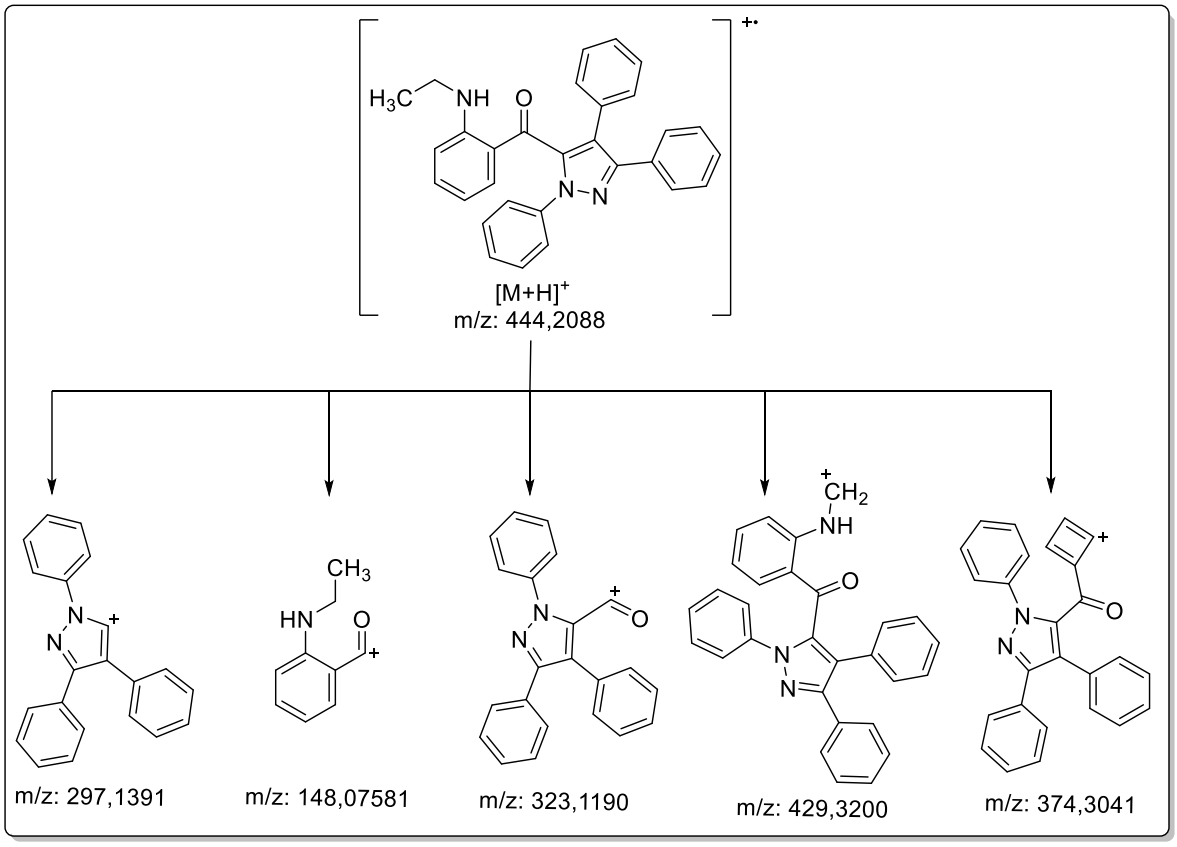


Schéma III.29. Fragmentation proposée pour le pyrazole **(5a)**

Les données analytiques et spectroscopiques de tous les composés synthétisés sont indiquées dans le *tableau III.4.* Les données de spectrométrie de masse sont en parfait accord avec les structures proposées. Le pic d'ion moléculaire $[M+H]^+$ est observé dans le spectre de chaque composé.

Tableau III.4. Données de caractérisation physique et spectroscopique des composés synthétisés

N°	R	T. (h)	P.f (°C)	Rdt[b] (%)	RMN ^{1}H (ppm)		RMN ^{13}C (ppm)	IR (cm^{-1})	HRMS (m/z) $[M+H]^+$
					R_1/R_2	NH	R_1 et R_2	NH	
5a[a]	H	4	160-162	92	CH_2 (3,26) CH_3 (1,32)	8,72	CH_2 (37,2) CH_3 (14,4)	3316	444,2088
5b	OCH_3	5	146-148	84	CH_2 (3,26) CH_3 (1,32)	8,73	CH_2 (37,2) CH_3 (14,4)	3314	474,2180
6a	H	10	170-172	70	CH_2 (4,51)	9,24	CH_2 (46,4)	3312	506,2228
6b	OCH_3	8	188-190	88	CH_2 (4,51)	9,25	CH_2 (46,4)	3327	536,2342
6c	Cl	7	138-140	65	CH_2 (4,52)	9,25	CH_2 (46,4)	3335	540,1845
6d	CH_3	9	152-154	76	CH_2 (4,51)	9,24	CH_2 (46,4)	3300	520,2394
7a	H	11	148-140	66	CH_2 (3,91) HC=C (5,93) C=CH_2 (5,21)	8,96	CH_2 (44,7)	3292	456,2081
7b	OCH_3	10	146-148	73	CH_2 (3,9) HC=C (5,94) C=CH_2 (5,2)	8,96	CH_2 (44,7)	3346	486,2181
7c	Cl	8	130-132	69	CH_2 (3,92) HC=C 5,94) C=CH_2 (5,23)	8,97	CH_2 (44,7)	3352	490,1697
8a	H	9	178-180	57	CH_2 (4,03) C≡CH (2,26)	8,85	CH_2 (32,2) C≡C (79,5) C≡CH (71,5)	3329	454,1925
8b	OCH_3	5	170-172	68	CH_2 (4,03) C≡CH (2,26)	8,86	CH_2 (32,2) C≡C (79,6) C≡CH (71,5)	3323	484,2022
9a	H	2	200-202	83	CH_3 (2,92)	8,80	CH_3 (29,3)	3316	430,1931
9b	OCH_3	2,30	176-178	89	CH_3 (2,92)	8,79	CH_3 (29,3)	3309	460,2040
9c	Cl	3	174-176	76	CH_3 (2,93)	8,81	CH_3 (29,3)	3350	464,1540
9d	CH_3	1	172-174	91	CH_3 (2,92)	8,81	CH_3 (29,3)	3318	444,2092
10a[c]	H	14	180-182	55	$2CH_3$ (2,67)	-	$2CH_3$ (43,9)	-	444,2069
10b[c]	OCH_3	13	134-136	67	$2CH_3$ (2,67)	-	$2CH_3$ (44,0)	-	474,2189
10c[c]	Cl	17	164-166	59	$2CH_3$ (2,67)	-	$2CH_3$ (44,1)	-	478,1701
10d[c]	CH_3	12	158-160	74	$2CH_3$ (2,68)	-	$2CH_3$ (44,0)	-	458,2250

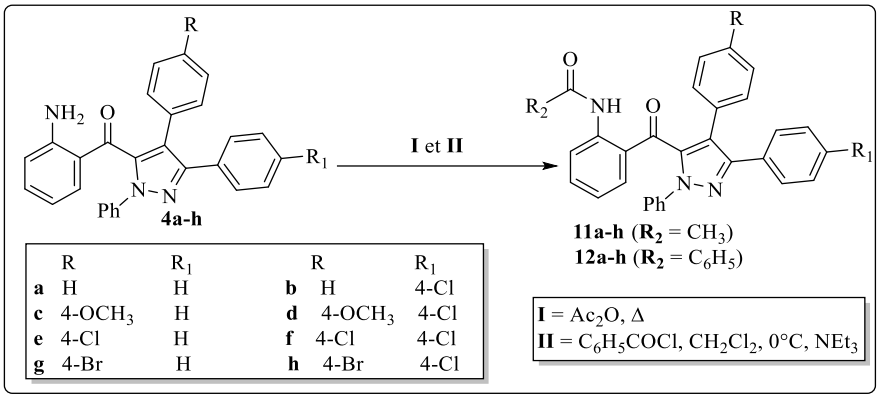
[a]Réactifs et conditions : **4a-d** (1 équiv), R-X (1 équiv), DMF (20 ml), BTBA (0,5 équiv), NaH (1 equiv), t.a. [b] Rendements isolés. [c]Conditions : **4a-d** (1 équiv), CH_3I (2 équiv), NaH (2 équiv).

V.3. Synthèse des pyrazoles fonctionnalisés

V.3.1. Synthèse des pyrazoles portant une fonction amide

Dans le but de synthétiser des pyrazole fonctionnalisés, les produits de transformation préparés ont été mis en réaction avec le chlorure de benzoyle et l'anhydride acétique. L'action du chlorure de benzoyle sur les composés 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4**(**a-h**) a été réalisée dans le dichlorométhane à 0 °C en présence de la triéthylamine comme catalyseur basique.

Tandis que la réaction avec l'anhydride acétique utilisé comme réactif et solvant en même temps nécessite un chauffage à reflux (*schéma III.30*). Cette stratégie nous a permis d'obtenir de nouveaux pyrazoles possédant une fonction amide (**11a-h** et **12a-h**) avec des rendements satisfaisants [82,87].



	R	R_1		R	R_1
a	H	H	**b**	H	4-Cl
c	4-OCH_3	H	**d**	4-OCH_3	4-Cl
e	4-Cl	H	**f**	4-Cl	4-Cl
g	4-Br	H	**h**	4-Br	4-Cl

Schéma III.30. Synthèse des pyrazoles fonctionnalisés par la fonction amide

La structure des nouveaux composés synthétisés a été déterminée sur la base des données spectroscopiques usuelles, spectrométrie de masse et confirmée par les études cristallographiques.

Les spectres IR des composés synthétisés (**11a-h** et **12a-h**) montrent en particulier la présence d'une bande d'absorption entre 3200 et 3320 cm^{-1} relative à la vibration de la liaison N-H. Deux autres bandes vers 1700 et 1640 cm^{-1} caractéristiques de la vibration de la liaison C=O de la fonction amide et de la cétone respectivement. Comme exemple représentatif, nous donnons dans la *figure III.18* le spectre IR du composé **11a**.

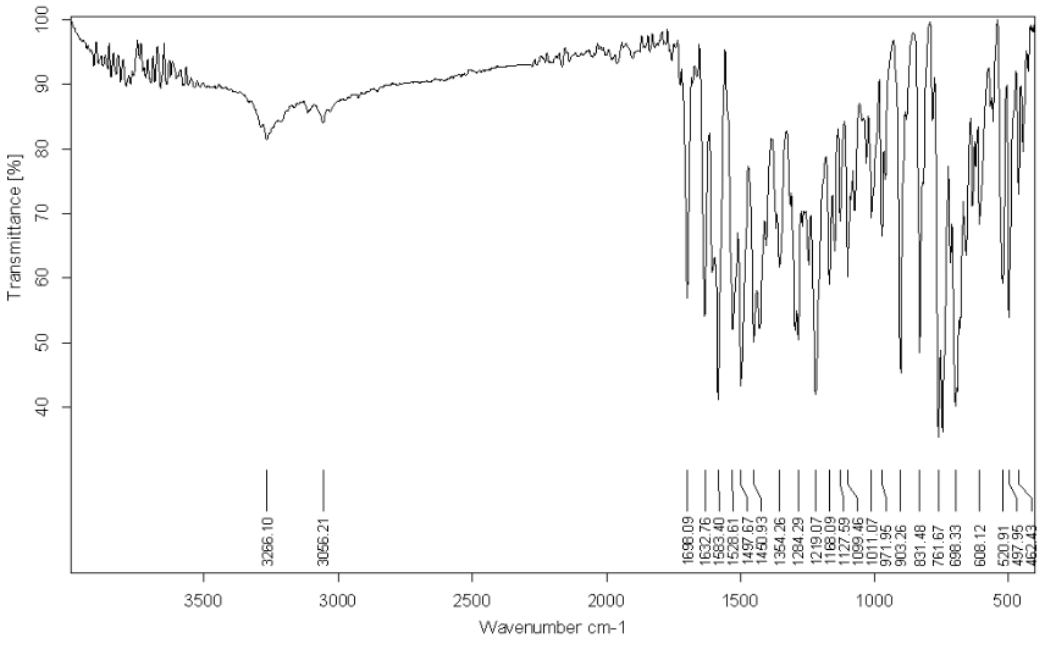


Figure III.18. Spectre IR du composé **(11a)**

Les spectres RMN ^{1}H des différents pyrazole-amide préparés (**11a-h** et **12a-h**) permettent de relever en particulier, la présence d'un signal singulet dans l'intervalle entre 11 ppm et 12,30 ppm qui disparait par addition de D_2O correspondant au proton NH de la fonction amide. Un autre signal vers 2,3 ppm intégrant trois protons relatifs aux protons du groupement méthyle CH_3 de l'acétamide. Comme exemple représentatif, nous donnons dans les *figures III.19 et 20* les spectres RMN de proton du composé **11a**.

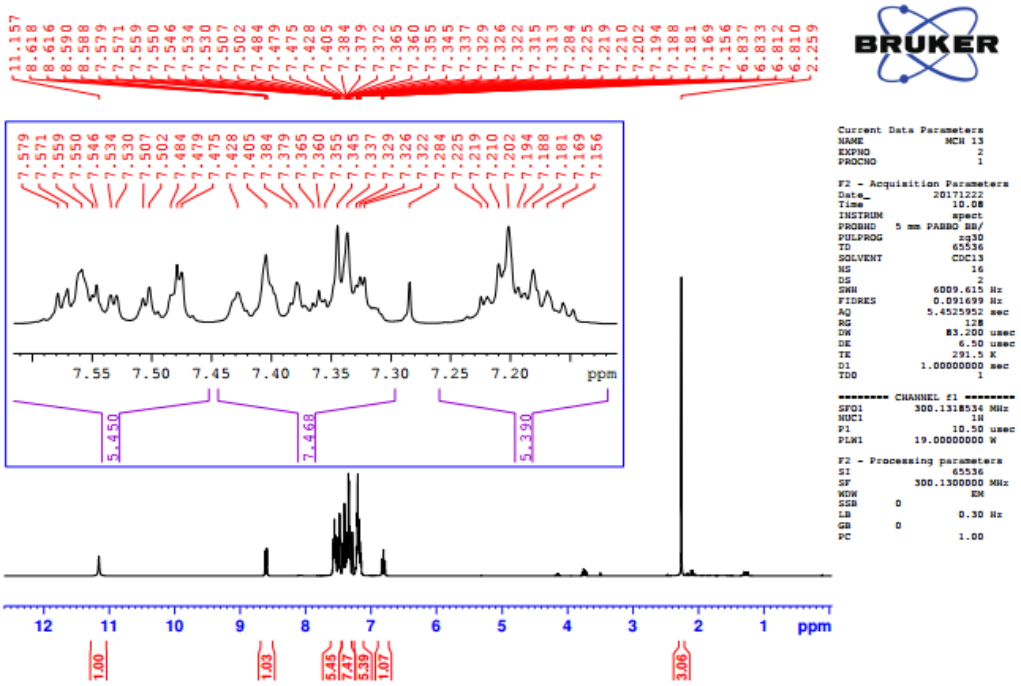


Figure III.19. Spectre RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) du composé **(11a)**

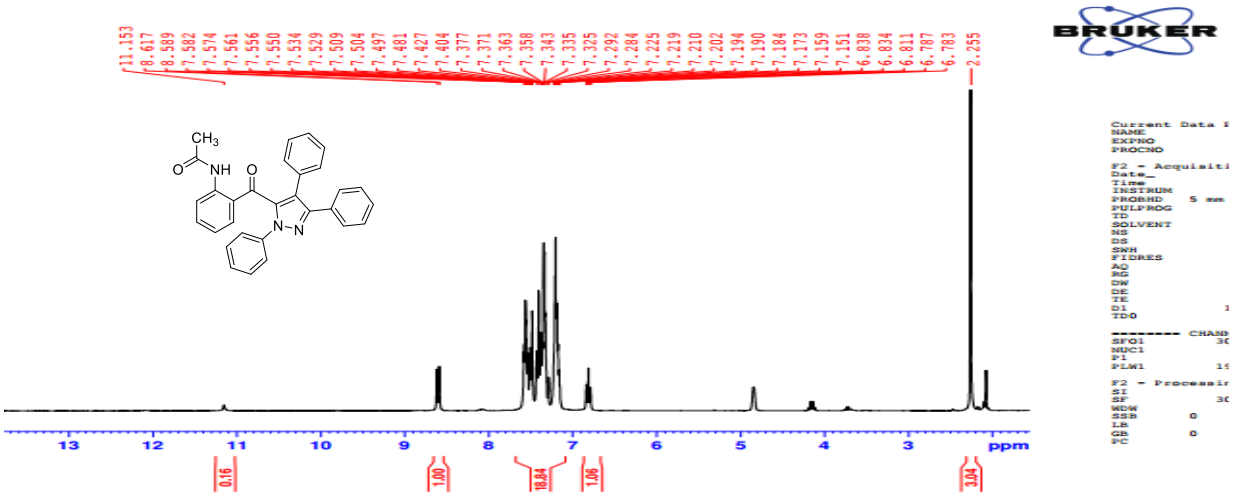


Figure III.20. Spectre de RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$ +D_2O) du composé **(11a)**

Les spectres RMN ^{13}C des composés synthétisés (**11a-h** et **12a-h**) révèlent la présence des signaux caractéristiques suivants : Un signal vers 169 ppm attribuable au carbone de la fonction amide et un autre signal vers 192 ppm correspondant au carbone du groupement

carbonyle. En plus d'un signal vers 25 ppm attribuable au carbone du groupement méthyle CH_3 de l'acétamide. A titre d'exemple nous donnons dans la *figure III.21*, le spectre RMN de carbone 13 du composé **11a** enregistré dans le chloroforme ($CDCl_3$).

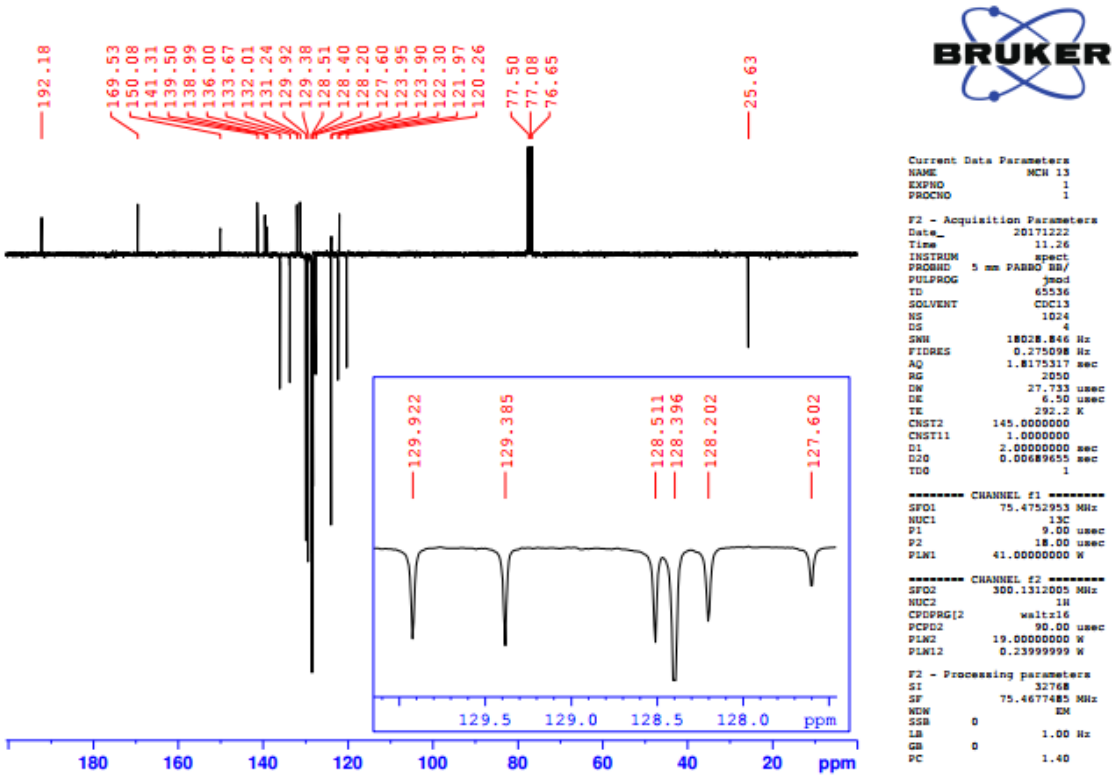


Figure III.21. Spectre de RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) du composé **(11a)**

La structure des composés synthétisés a été également confirmée par spectrométrie de masse à haute résolution. Les données de la spectrométrie de masse obtenues sont en parfait accord avec les structures proposées. Les pics des ions moléculaires sodiés $[M+Na]^+$ de tous les composés ont été observés. A titre d'exemple nous donnons dans la *figure III.22* le spectre de masse du composé **11a**.

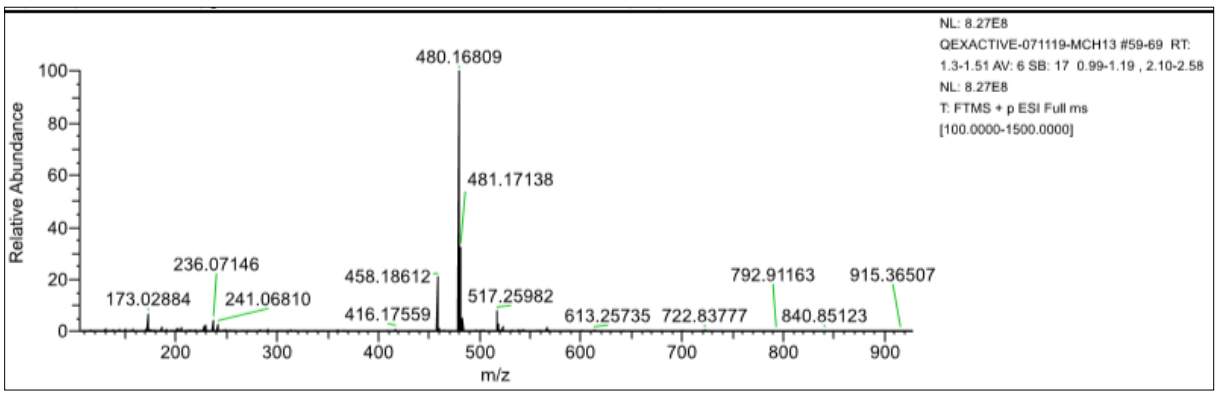


Figure III.22. Spectre de masse du composé **(11a)**

La diffraction des rayons-X sur monocristal est un moyen très utilisé en chimie organique pour déterminer sans ambiguïté la structure des molécules. Dans ce cadre, nous avons réalisé une étude de diffraction des rayons-X sur les monocristaux des composés **11e** et **11f** [87].

L'étude structurale montre que les deux composés **11e** et **11f** cristallisent dans le système monoclinique, groupes d'espace $P2_1/c$ et $P2_1/n$, respectivement. L'analyse des résultats obtenus, montre que la structure asymétrique des composés renferme plusieurs cycles à savoir phényle, pyrazole, aminobenzoyle et chlorophényle.

Les représentations ORTEP de la structure des deux molécules données dans les *figures III.23* et *24*, montrent que les cycles formant chaque molécule apparaissent presque coplanaires. En fait, la plus grande inclinaison de 68,72 (11)° est observée entre le plan du pyrazole (N2N3C5C6C7) et le plan traversant l'acétophénone (C9C10C13 à C16) de la première molécule (**11e**). L'angle correspondant dans la seconde molécule (**11f**) est de 66,43 (8)°. De plus, le cycle phényle (C17 à C22) est presque perpendiculaire au cycle *p*-chlorophényle (C25 à C30) comme l'indique l'angle dièdre de 85,58(11) ° entre les deux noyaux. Presque la même valeur de 86,83(9)° est observée dans la seconde molécule (**11f**), dans laquelle le substituant *p*-chlorophényle (C9 à C14) est presque coplanaire avec le cycle pyrazolique comme l'indique l'angle dièdre de 8,95 (8)° entre eux.

Formule chimique	$C_{30}H_{22}ClN_3O_2$
Masse (g/mol)	491,95
Système Cristallin, Groupe d'espace	Monoclinique, $P2_1/c$
Température (K)	296
A	16,1391 (9),
b	17,0782 (9),
c (Å)	9,3629 (5)
β (°)	103,117 (2)
V (Å^3)	2513,3 (2)
Z	4

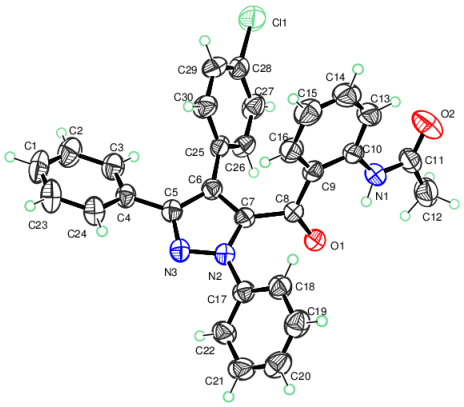


Figure III.23. Données cristallographiques et Vue ORTEP du composé **11e**.

Formule chimique	$C_{30}H_{20}Cl_2N_3O_2$
Masse (g/mol)	525,39
Système Cristallin,	Monoclinique
Groupe d'espace	$P2_1/n$
Température (K)	296
A	9,2912 (5),
b	17,8175 (11),
c (Å)	15,4675 (10)
β (°)	96,307 (2)
V (Å^3)	2545,1 (3)
Z	4

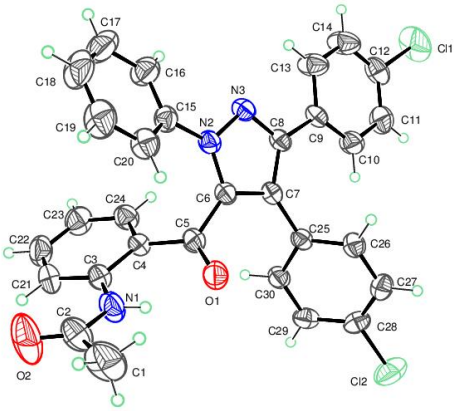


Figure III.24. Données cristallographiques et vue ORTEP du composé **11f**.

La structure tridimensionnelle des deux composés **11e** et **11f** est stabilisée via une multitude d'interactions de liaisons inter et intramoléculaires. Dans le cristal du composé **11e**, les molécules sont liées entre elles par trois liaisons hydrogène C—H...O et C—H...Cl, en plus de l'interaction C—H...π pour former un réseau tridimensionnel comme le montre *la figure III.25*. La conformation moléculaire est stabilisée par deux liaisons hydrogène intramoléculaires N—H...O et C—H...O. La cohésion cristalline du composé **11f** est assurée par une liaison hydrogène C—H...O (*figure III.26*). Les molécules sont liées également entre elles par une interaction C—H...π. Ces mêmes liaisons hydrogènes intramoléculaires contribuent à la stabilité de la conformation de la molécule.

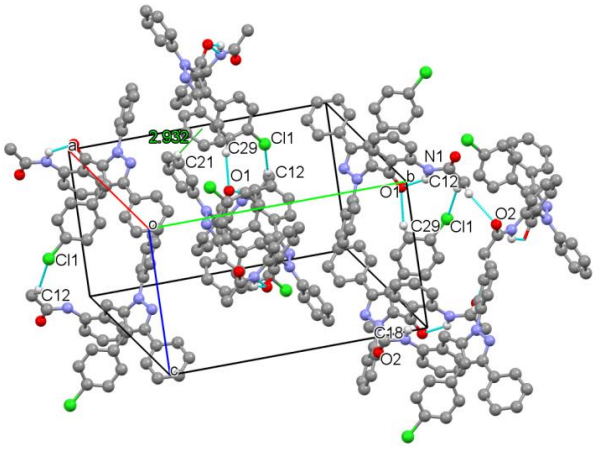


Figure III.25. Empilement de la structure du composé **11e**

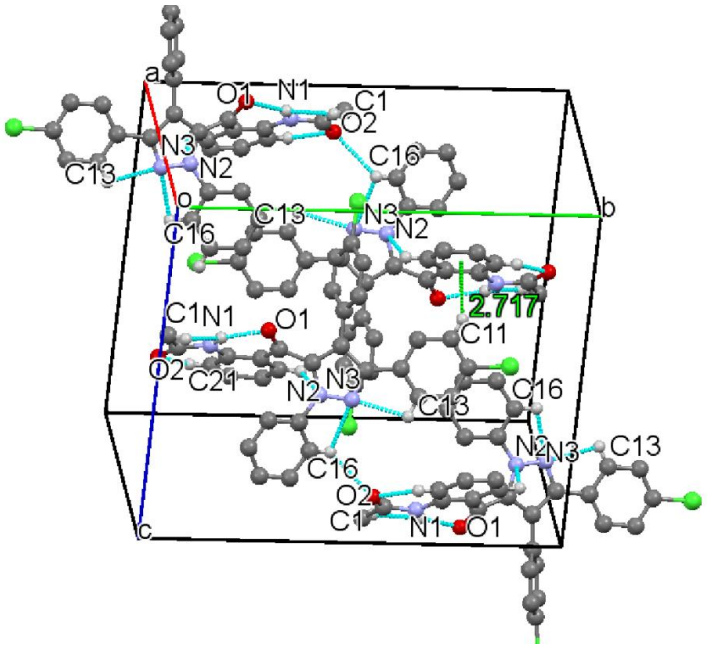
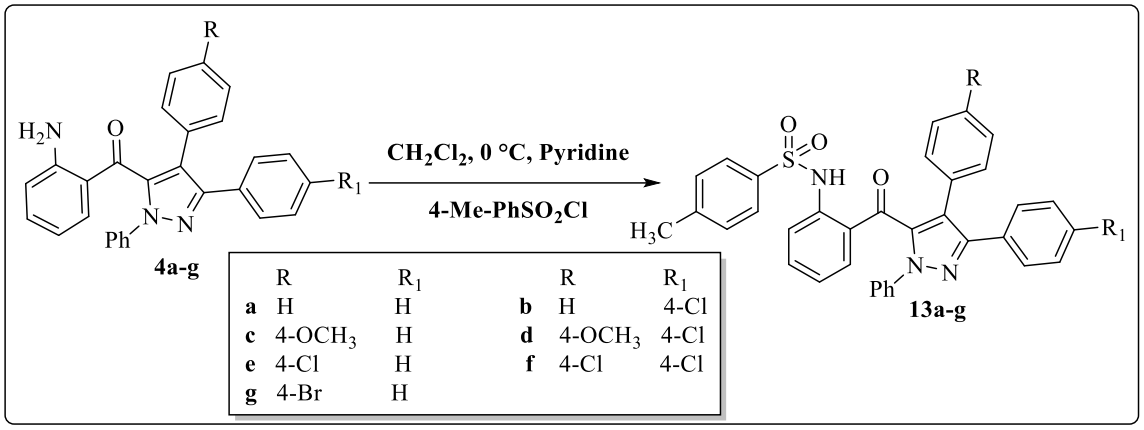


Figure III.26. Empilement de la structure du composé **11f**

V.3.2. Synthèse des pyrazoles portants une fonction sulfonamide

Les sulfonamides sont parmi les premières classes d'antibiotiques largement utilisés comme agents préventifs et curatifs contre diverses maladies infectieuses [17,88,89]. L'association de ce pharmacophore avec le motif pyrazole dans un seul squelette moléculaire pour générer un effet synergique est largement utilisé pour développer de nouveaux médicaments [17–19,39,88]. Diverses molécules contenant les deux pharmacophores sulfonamide et pyrazole présentent des activités antioxydante [39], antimicobienne [31,39,90], anti-inflammatoire [90,91], anticancéreuse [92], inhibiteur sélectif de l'anhydrase carbonique [93], etc. Parmi ces molécules des antibiotiques comme le sulphaphénazole des anti-inflammatoires comme le célécoxib qui sont déjà disponibles sur le marché [18,19].

Parmi nos objectifs, la synthèse d'une nouvelle famille des dérivés de pyrazole possédant un motif sulfonamide. Bien évidemment, ce motif a été choisi pour son activité antibactérienne prometteuse, comme nous l'avons souligné précédemment. Pour ce faire, nous avons engagé les pyrazoles (**4a-g)** dans la réaction de sulfonation avec le chlorure de tosyle en présence de la pyridine à 0 °C dans le dichlorométhane (*schéma III.31*). Dans tous les cas étudiés la réaction aboutit à une nouvelle gamme de pyrazoles portants une fonction sulfonamide avec des bons rendements.



	R	R_1		R	R_1
a	H	H	**b**	H	4-Cl
c	4-OCH_3	H	**d**	4-OCH_3	4-Cl
e	4-Cl	H	**f**	4-Cl	4-Cl
g	4-Br	H			

Schéma III.31. Voie de synthèse des pyrazoles-sulfonamide **13a-g.**

La structure et la pureté de tous les composés nouvellement synthétisés ont été établies par des techniques spectroscopiques usuelles à savoir IR, RMN de proton et du carbone 13, et spectrométrie de masse à haute résolution [82,94]. Les spectres IR des composés **13a-g** montrent en particulier la présence d'une bande d'absorption entre 3188 et 3303 cm^{-1} relative à la vibration de la liaison N-H. Une autre bande entre 1620 et 1665 cm^{-1} caractéristique de l'absorption du groupement carbonyle. En outre, sur les spectres RMN ^1H on note en plus des signaux attribuables aux protons aromatiques, un signal singulet vers 11 ppm qui disparait par addition de D_2O correspondant au proton NH. Un autre signal vers 2,4 ppm intégrant 3 protons relatifs aux protons du groupement méthyle CH_3 du groupement tosyle. Les spectres RMN ^{13}C révèlent la présence des signaux caractéristiques suivants : un signal vers 21,6 ppm attribuable au carbone du groupement méthyle CH_3 du tosyle et un autre signal vers 191 ppm correspondant au carbone du groupement carbonyle. Les propriétés physiques et l'ensemble des résultats spectroscopiques, et spectrométriques sont regroupés dans le *tableau III.5*.

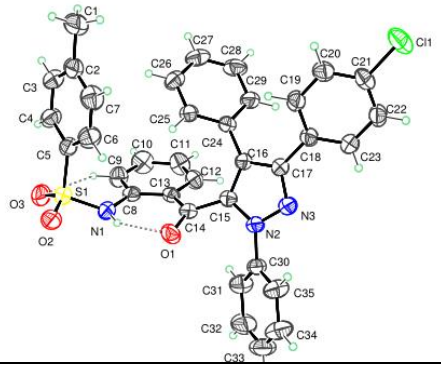
Tableau III.5. Propriété physiques et spectroscopiques des nouveaux pyrazoles synthétisées

N°	R	R_1	P.F. (°C)	Rdt (%)	IR (cm^{-1})		RMN ^1H (ppm)		RMN ^{13}C (ppm)		HRMS (m/z) $[M+H]^+$
					NH	C=O	NH	CH_3	C=O	CH_3	
13a	-	-	180-182	60	3303	1622	11,07	2,45	192,2	21,65	592,1663
13b	Cl	-	172-174	54	3188	1620	11,01	2,44	191,3	21,62	626,1272
13c	-	OCH_3	188-190	76	3193	1629	11,07	2,45	191,6	21,62	622,1756
13d	Cl	OCH_3	182-184	66	3214	1632	11,04	2,44	191,5	21,61	656,1364
13e	-	Cl	196-198	80	3243	1657	11,01	2,46	191,4	21,63	626,1262
13f	Cl	Cl	208-210	71	3256	1661	11,05	2,46	191,2	21,63	660,0869

13g	-	Br	200-202	74	3230	1665	11.01	2.47	191,3	21,66	670,0757

Les structures des pyrazoles sulfonamide **13a-g** ont été confirmées sur la base des données cristallographiques issues de la diffraction des rayons X sur monocristal. Parmi les produits préparés, la structure du composé **13b** a été déterminée sans ambiguïté par des études cristallographiques [94]**.** Les monocristaux adéquats du composé **13b** pour une détermination structurale ont été isolés par évaporation lente à température ambiante à partir d'une solution d'un mélange d'éthanol et de dichlorométhane. La représentation ORTEP de l'unité asymétrique de la structure du composé étudié présenté dans la *figure III.27* montre que les caractéristiques structurales cristallographiques du composé **13b** sont en accord avec ceux obtenus à partir des études spectroscopiques. La vue ortep de la structure asymétrique du composé **13b** montre que le cycle pyrazole central (N3-N2-C15-C16-C17) est presque plan avec la plus grande déviation du plan moyen de -0,012(2) à l'atome C17. Il est relié à trois cycles benzéniques et à un sulfonamide comme la montre la *figure III.27*. Les angles dièdres entre le cycle pyrazole et les différents substituants à savoir : le cycle chlorobenzène (C18-C23) et les deux cycles phényles (C24-C29) et (C30-C35) sont respectivement de 37,35(11)°, 49,98(11)° et 34,75(13)°. Le plan moyen passant par le cycle aminobenzoyle (C8-C13) est presque perpendiculaire à celui du cycle chlorobenzène comme l'indique l'angle dièdre entre les deux de 87,95(11)°. D'autre part, l'angle dièdre formé par les deux cycles phényles (C2-C7) et (C8-C13) liés au groupe sulfonamide est de 79,30(12)°, ce qui indique que ces deux cycles sont presque orthogonaux l'un à l'autre. En outre, dans la structure tridimensionnelle du composé étudié, les molécules sont reliées entre elles par une liaison hydrogène C4—H4...Cl1 et une autre interaction π...π entre le pyrazole et un cycle benzénique (C30-C35), avec une distance de 3,92 (2) Å, comme le montre le réseau tridimensionnel résultant présenté dans la *figure III.28*. De plus, la conformation moléculaire est stabilisée par deux liaisons hydrogène intramoléculaires (*figure III.27)*.

Formule chimique	$C_{35}H_{26}ClN_3O_3S$
Masse	604,10
Système Cristallin, Groupe d'espace	Monoclinique $P2_1/c$
Température (K)	296
a	9,8893 (8)
b	28,871 (2)
c (Å)	11,2462 (9)
β (°)	109,850 (3)



V (Å^3)	3020,2 (4)
Z	4

Figure III.27. Données cristallographiques et vue ORTEP du composé **13b**.

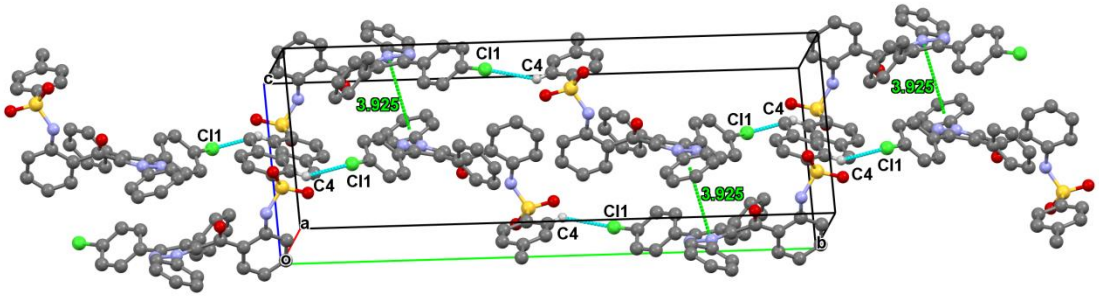


Figure III.28. Empilement de la structure du composé **13b**

VI. Activité antimicrobienne des composés synthétisés

L'émergence et la propagation des maladies infectieuses causées par les agents pathogènes comme les levures, les bactéries Gram négatif et Gram positif constituent une menace grandissante et sérieuse pour la santé publique [95–99]. La lutte contre les micro-organismes pathogènes se fait principalement par l'usage des antibiotiques capables de les détruire ou d'en bloquer leur croissance [97]. Les antibiotiques couramment utilisés sont des molécules d'origine naturelle, synthétique ou hémi-synthétique comme les pénicillines, les sulfamides, la céfixime, l'azithromycine, la tétracycline [100], etc. L'emploi de ces antibiotiques est assez large et couvre aussi bien le domaine de la santé humaine qu'animale. Cependant, Leur usage, souvent abusif, entraîne l'apparition de phénomène d'antibiorésistance qui se traduit par la capacité d'un micro-organisme à résister à l'effet de l'antibiotique [101,102].

Pour pallier à cette résistance un renouvellement constant des principes actifs s'impose comme solution [103,104]. Ces molécules recherchées doivent posséder diverses autres propriétés chimiques et de nouveaux mécanismes d'action contre ces micro-organismes pathogènes [8,104]. La recherche avancée en chimie de synthèse a mis en évidence un nombre important de composés hétérocycliques à potentiel antimicrobien. Les hétérocycles incorporant dans leur structure le fragment pyrazole font partie de ces composés. A cet égard, nous avons envisagé la synthèse d`une nouvelle série de dérivés pyrazoliques différemment fonctionnalisés, afin d'évaluer leur activité antimicrobienne *in vitro* dans l'espoir de découvrir de nouvelles molécules dotées de puissante activité.

VI.1. Activité antimicrobienne des 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles 4(a-h)

La nouvelle série des composés pyrazoliques (*figure III.29*) synthétisés par transformation des composés spiraniques a été testé in *vitro* pour leur activité antimicrobienne contre les

bactéries Gram positif : *Staphylococcus aureus* (S.A.), les bactéries Gram négatif : *Escherichia coli* ATB57 (E. C.), *Klebsiella pneumoniae* (K.P.) et *Pseudomonas aeruginosa* (P.A.), et les levures : *Candida albicans* ATCC10231 (C.A.) et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC9763 (S.C.). Les souches bactériennes testées ont été obtenues auprès du laboratoire de microbiologie du *CHU-Fès*, Maroc. Ces espèces bactériennes sont souvent responsables d'infections nosocomiales qui constituent un problème majeur de santé publique. Les souches fongiques utilisées ont été fournies par le laboratoire de biotechnologie de la Faculté des sciences Dhar El-Mahraz Fès.

Les activités antibactérienne et antifongique des composés cibles ont été déterminées comme concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de sensibilité à la microdilution en bouillon [94]. La CMI est considérée comme la concentration la plus faible d'un antimicrobien nécessaire, qui peut inhiber complètement la croissance d'un micro-organisme. Les antibiotiques Ampicilline et Streptomycine ont été utilisés comme témoins positifs contre les espèces bactériennes, et le Fluconazole comme témoin positif pour les souches fongiques. Il a été observé que l'utilisation du DMSO comme solvant n'influence pas l'activité antimicrobienne des échantillons testés aux concentrations utilisées.

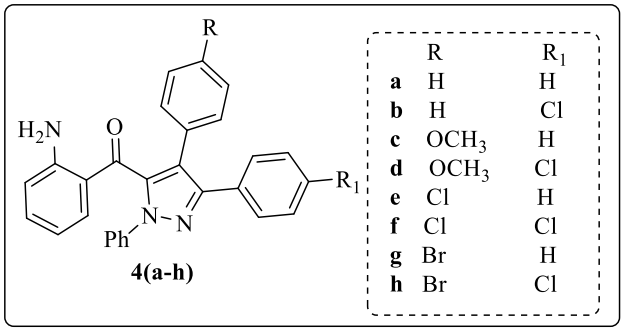


Figure III.29

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont présentés dans le *tableau III.6* [94]. Les résultats des études préliminaires montrent que les dérivés de pyrazole testés présentent une activité antimicrobienne in *vitro* à des concentrations comprises entre 62,5 et 250 µg/ml contre les micro-organismes pathogènes testés. Les meilleurs résultats ont été obtenus contre les souches fongiques. Les composés **4a** et **4f** montrent une activité inhibitrice intéressante contre la souche fongique *Saccharomyces cerevisiae* avec une valeur de CMI de 62,5 µg/ml, en comparaison avec le contrôle positif (20 µg/ml). De plus, le composé **4a** présente une activité fongique remarquable contre la levure *Candida albicans* avec une valeur de CMI de 62.5 µg/ml, en comparaison avec le Fluconazole (40 µg/ml). Par contre, les dérivés de

pyrazole sont moins efficaces en tant qu'agents antibactériens contre les bactéries testées, en comparaison avec les médicaments standards.

Tableau III.6. Activité antimicrobienne des composés synthétisés **4(a-h)**

Composés			**CMI (µg/ml)**					
N°.	***R***	***R₁***	***E. C.***	***K. P.***	***P. A.***	***S. A.***	***C. A.***	***S. C.***
4a	H	H	125	250	250	125	**62.5**	**62.5**
4b	H	Cl	250	125	250	250	125	125
4c	OCH_3	H	250	125	250	250	125	125
4d	OCH_3	Cl	250	125	250	250	125	125
4e	Cl	H	250	250	250	125	250	250
4f	Cl	Cl	250	125	250	250	125	**62.5**
4g	Br	H	250	250	125	125	125	250
4h	Br	Cl	250	125	250	250	125	125
Streptomycine			25	3.12	-	12.5	-	-
Ampicilline			50	25	1.56	25		
Fluconazole			-	-	-	-	40	20

VI.2. Activité antimicrobienne des composés pyrazoliques N-alkylés (5-10)

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des composés cibles **5-10** (*figure III.30*) contre les différents microbes pathogènes sélectionnés, les tests antimicrobiens *in vitro* ont été réalisés en utilisant la méthode de la microdilution [85]. Les souches bactériennes Gram positif : *Listeria innocua* (CECT 4030), *Staphylococcus aureus* (CECT 976) et une souche bactérienne Gram négatif *Escherichia coli* (K12) sont employées pour évaluer l'activité antibactérienne et la levure *Candida albicans* (ATCC 10231) pour évaluer l'activité antifongique. Les souches bactériennes ont été fournies par le Laboratoire des Ressources Naturelles et de l'Environnement, Faculté Polydisciplinaire de Taza.

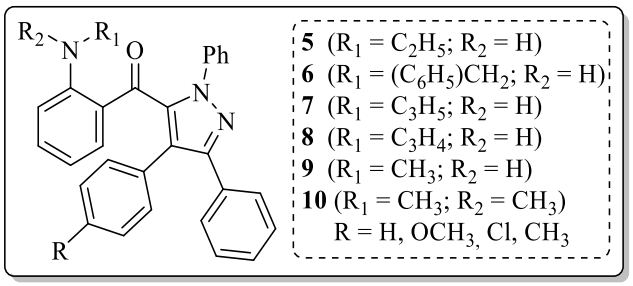


Figure III.30. Les composés pyrazolique N-alkylés cibles **(5-10)**

Les résultats des études préliminaires ont été rapportés dans le *tableau III.7*, le fluconazole (F) et streptomycine (S) ont été ont été utilisés comme références à des fins de comparaison. Selon les résultats obtenus [85], certains composés cibles présentent des propriétés antimicrobiennes modérées contre les bactéries et contre la souche fongique. En particulier, le composé **10b** montre une activité inhibitrice avec des valeurs de CMI comprises entre 250 à

1000 µg/ml contre les microorganismes testés relativement importante par rapport aux autre composés étudiés. De plus, le composé **6c** montre une activité antibactérienne avec des valeurs CMI de 250 et 500 µg/ml contre les souches bactériennes *E. coli* et *L. innocua*, respectivement. De même, le composé **10c** présente une inhibition bactérienne contre *E. coli* avec la valeur de CMI de 500 µg/ml.

Les différents micro-organismes sélectionnés sont inhibés par presque la plupart des composés avec des activités inferieurs à celles des témoins de références. Les composés **6a** et **9d** n'ont montré aucune activité contre les microbes testés. Lorsque la valeur de CMI observée est supérieure à 2000 µg/ml, le composé est considéré comme inactif (signalé AA, aucune activité).

Les composés dotés d'une activité antimicrobienne importante sont ensuite testés pour déterminer la concentration bactéricide minimale (MBC) et la concentration fongicide minimale (MFC). Il convient de noter d'après les résultats répertoriés dans le *tableau III.8*, que le composé **10b** montre des effets bactéricide et fongicide contre les microorganismes cibles, et un effet bactéricide contre *E. coli* pour les composes **6c** et **10c**.

Tableau III.7. Criblage antimicrobien en tant que CMI (µg/ml) des composés cibles (**5-10**) contre les micro-organismes testés.

Composés				**CMI (µg/ml)**			
				Antibactérien			**Antifongique**
N°	***R***	***R1***	***R2***	***E. coli***	***S. aureus***	***L. innocua***	***C. albicans***
5a	H	C_2H_5	H	AA	AA	2000	AA
5b	OCH_3	C_2H_5	H	AA	2000	AA	1000
6a	H	$(C_6H_5)CH_2$	H	AA	AA	AA	AA
6b	OCH_3	$(C_6H_5)CH_2$	H	1000	2000	2000	1000
6c	Cl	$(C_6H_5)CH_2$	H	**250**	2000	**500**	2000
6d	CH_3	$(C_6H_5)CH_2$	H	AA	AA	AA	1000
7a	H	C_3H_5	H	1000	AA	2000	AA
7b	OCH_3	C_3H_5	H	2000	2000	2000	2000
7c	Cl	C_3H_5	H	2000	1000	1000	1000
8a	H	C_3H_4	H	2000	2000	2000	2000
8b	OCH_3	C_3H_4	H	1000	2000	AA	1000
9a	H	CH_3	H	2000	2000	2000	2000
9b	OCH_3	CH_3	H	2000	NA	2000	2000
9c	Cl	CH_3	H	2000	2000	2000	2000
9d	CH_3	CH_3	H	AA	AA	AA	AA
10a	H	CH_3	CH_3	1000	2000	2000	2000
10b	OCH_3	CH_3	CH_3	**1000**	**1000**	**500**	**250**
10c	Cl	CH_3	CH_3	**500**	1000	2000	1000
10d	CH_3	CH_3	CH_3	1000	NA	1000	2000
Streptomycine				62.5	7.8	15.6	NT
Fluconazole				NT	NT	NT	31.25

AA : aucune activité, NT : non testé

Tableau III.8. Les concentrations minimales bactéricides (CMB) ou fongicides (CMF) en µg/ml des composés les plus actifs.

Composés				CMB or CMF (µg/ml)			
				Antibactérien			Antifongique
				E. coli	*S. aureus*	*L. innocua*	*C. albicans*
N°	*R*	*R₁*	*R₂*	**MBC**	**MBC**	**MBC**	**MFC**
6c	Cl	$(C_6H_5)CH_2$	H	**250**	ND	**500**	ND
10b	OCH_3	CH_3	CH_3	1000	1000	**500**	**250**
10c	Cl	CH_3	CH_3	**500**	ND	ND	2000

ND : non déterminée

VI.3. Activité antimicrobienne des pyrazoles portant la fonction amide

L'activité antimicrobienne *in vitro* des pyrazoles portant la fonction amide synthétisés (**11a-h** et **12a-h**) (*figure III.31*) a été évaluée contre les micro-organismes sélectionnés pour l'étude [87]**.** La méthode de dilution en milieu liquide a été utilisée pour l'évaluation de la sensibilité des microbes aux différents composés. Les résultats du criblage antimicrobien en termes de valeurs des concentrations minimales inhibitrices, des composés et des médicaments standards sont regroupés dans le *tableau III.9*.

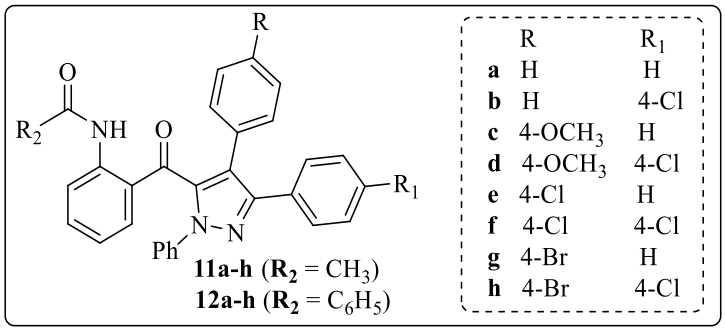


Figure III.31. Structure des molécules testés **(11a-h** et **12a-h)**

Tableau III.9. Activité antimicrobienne des composés synthétisés

Composés				CMI (µg/ml)					
N°	*R*	*R₁*	*R₂*	*E. C.*	*K. P.*	*P. A.*	*S. A.*	*C. A.*	*S. C.*
11a	H	H	CH_3	250	125	250	250	250	250
11b	H	Cl	CH_3	250	125	250	250	125	125
11c	OCH_3	H	CH_3	250	250	250	250	**62,5**	125
11d	OCH_3	Cl	CH_3	250	125	250	250	125	125
11e	Cl	H	CH_3	250	250	250	250	250	250
11f	Cl	Cl	CH_3	250	250	>250	250	125	**62,5**
11g	Br	H	CH_3	125	125	125	**62,5**	125	250
11h	Br	Cl	CH_3	250	125	250	250	125	125
12a	H	H	C_6H_5	125	125	125	250	125	125
12b	H	Cl	C_6H_5	250	250	250	250	125	125
12c	OCH_3	H	C_6H_5	250	125	250	250	**62,5**	125
12d	OCH_3	Cl	C_6H_5	250	125	250	250	250	125
12e	Cl	H	C_6H_5	125	250	125	125	125	**62,5**

12f	Cl	Cl	C_6H_5	250	125	250	250	**62,5**	**31,25**
12g	Br	H	C_6H_5	125	125	125	**62,5**	125	125
12h	Br	Cl	C_6H_5	125	125	125	**62,5**	125	125
Streptomycine	-	-	-	25	3,12	-	12,5	-	-
Ampicilline	-	-	-	50	25	1,56	25	-	-
Fluconazole	-	-	-	-	-	-	-	40	20

D'après les résultats obtenus à partir de ces études préliminaires, il s'est avéré que les composés testés ont exercé une activité antimicrobienne faible à significative, avec des valeurs de la CMI qui varient entre 250 µg/mL et 31,25 µg/mL. Parmi les deux séries, une bonne activité antibactérienne a été observée pour les composés **11g**, **12g** et **12h** contre la souche bactérienne gram-positif *Staphylococcus aureus* (S.A.) avec une valeur de CMI de 62,5 µg/mL. En outre, ces composés ont montré une activité inhibitrice modérée contre les bactéries gram négatif (*Escherichia coli* (E.C.), *Klebsiella pneumoniae* (K.P.) et *Pseudomonas aeruginosa* (P.A.)). Par contre, les tests antifongiques ont révélé que certains produits étudiés présentent une bonne activité inhibitrice contre les souches fongiques en comparaison au médicament standard. Le composé **12f** a montré une activité inhibitrice significative contre les deux levures testés (*Candida albicans* (C.A.) et *Saccharomyces cerevisiae* (S.C.)) avec des valeurs de CMI de 62,5 µg/ml et 31,25 µg/ml respectivement. Les composés **11c** et **12c** ont montré une CMI de 62.5 µg/mL contre *Candida albicans* proches du standard (CMI 40 µg/ml). De même les composés **12e** et **11f** ont montré une activité antifongique modérée contre *Saccharomyces cerevisiae* avec une valeur de CMI de 62,5 µg/ml en comparaison au témoin positif (CMI 20 µg/ml). Les autres composés des deux séries ont montré un effet inhibiteur plus faible (125 à 250 µg/ml) contre diverses souches microbiennes testées. Les résultats obtenus ont montré des différences au niveau de l'activité antimicrobiennes entre les devers composés étudiés. Cette différence est due probablement à l'effet des substituants en position para des cycles phényles attachés au noyau pyrazolique et du substituant de la fonction amide. Nous avons observé que le substituant 4-bromophényle sur le cycle pyrazole a augmenté l'activité inhibitrice contre la souche bactérienne gram positif. Par contre, la présence des groupes méthoxy et chloro attachés au phényle du cycle pyrazole, ont exercé un bon effet inhibiteur contre les souches fongiques. Généralement, les composés pyrazoliques portant une fonction benzamide (**12a-h**) sont plus actifs que ceux contenant une fonction acétamide (**11a-h**).

VI.4. Activité antimicrobienne des pyrazoles portants une fonction sulfonamide

Les composés pyrazoliques contenant la fonction sulfonamide **13(a-g)** (*figure III.32*) ont été testés in *vitro* pour leur activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positif, les

bactéries Gram négatif et des levures par la méthode de sensibilité à la microdilution en bouillon [94].

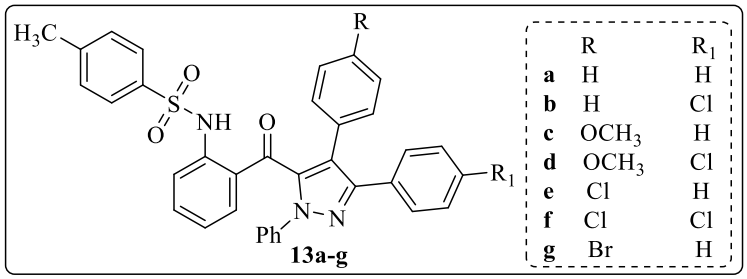


Figure III.32

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont présentés dans le *tableau III.10* [94]. Les résultats des études préliminaires montrent que les pyrazoles **13(a-g**) présentent une activité antimicrobienne in *vitro* faible à excellentes à des concentrations comprises entre 31,25 et 250 µg/ml contre les micro-organismes pathogènes testés. Certains composés manifestent une activité antibactérienne et antifongique importantes, en particulier, le composé **13f** montre une remarquable activité contre *Candida albicans* (62,5 µg/ml) et *Saccharomyces cerevisiae* (31,25 µg/ml), en comparaison au médicament standard Fluconazole. L'activité antifongique obtenue pour le composé **13f** peut être attribuée à la présence de deux atomes de chlore (Cl) en position para sur les cycles benzéniques [105,106]. De plus, le composé **13e** présente une activité inhibitrice significative contre *Saccharomyces cerevisiae* avec une valeur de CMI de 62,5 µg/ml, alors qu'il manifeste une activité modérée contre *Candida albicans* (Valeur de CMI comprises entre 125 µg/ml), en comparaison avec le même médicament de référence. L'activité antifongique observée pour ces composés est comparable à celle décrite dans la littérature pour des composés analogues [90,106,107]. Cependant, pour l'activité antibactérienne le composé **13g** présente une inhibition remarquable contre la souche gram positif *Staphylococcus aureus* avec une valeur de CMI de 62,5 µg/ml, et une activité modérée contre les autres bactéries avec des valeurs de CMI de l'ordre de 125 µg/mL. L'activité observée pour les composés pyrazole-sulfonamide **13(a-g**) en comparaison aux autres composés pyrazoliques **4(a-h)** peut être attribué à l'effet synergique entre le pharmacophore pyrazole et du groupement sulfonamide [90,107].

Tableau III.10. Activité antimicrobienne des composés synthétisés **13(a-g)**

Composés			**CMI (µg/ml)**					
N°	***R***	***R_1***	***E. C.***	***K. P.***	***P. A.***	***S. A.***	***C. A.***	***S. C.***
13a	H	H	250	250	250	125	250	125
13b	H	Cl	250	125	250	250	125	125
13c	OCH_3	H	250	125	125	250	125	125
13d	OCH_3	Cl	250	125	125	250	125	125
13e	Cl	H	**125**	**125**	**125**	**250**	**125**	**62,5**
13f	Cl	Cl	250	125	250	250	**62,5**	**31,25**
13g	Br	H	**125**	**125**	**125**	**62,5**	**125**	**125**
Streptomycine			25	3,12	-	12,5	-	-
Ampicilline			50	25	1,56	25		
Fluconazole			-	-	-	-	40	20

VII. Activité antioxydante des composés synthétisés

Le potentiel antioxydant des composés préparés a été déterminé à l'aide de la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. La détermination de la capacité de piégeage du radical DPPH a été énormément utilisée pour étudier l'activité antioxydante des produits de synthèse organique. Cette méthode offre une approche rapide pour le criblage de l'activité antioxydante des composés hétérocycliques. Le pouvoir antioxydant des composés de synthèse est confirmé par comparaison des valeurs de l'IC_{50}, la concentration de l'échantillon efficace pour réduire à moitié le pourcentage des radicaux DPPH en solution.

VII.1. Activité antioxydante des pyrazoles 4(a-h) et des pyrazoles-sulfonamide 13(a-g)

La capacité antioxydante des deux séries cibles **4(a-h)** et **13(a-g)** (*figure III.33*) a été déterminé à l'aide de la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. Les pourcentages d'inhibition à différentes concentrations sont exprimés en moyenne et rassemblés dans le *tableau III.11*. Les résultats de cette étude préliminaire montrent que certains composés présentent une capacité remarquable de piégeage des radicaux libres (DPPH) par rapport au standard BHT. L'étude révèle que les composés **4a** (PI (%) = 41,81) et **4e** (PI (%) = 38,03) montrent une activité antioxydante comparable à celle du BHT (PI (%) = 43,93) à une concentration faible (3 µg/ml). Pour les composés **4b**, **4c**, **13a, 13c, 13f** et **13g**, nous avons remarqué que l'activité antioxydante augmente en fonction de la concentration et devient proche de celle du standard à des concentrations élevées. L'analyse des résultats obtenus montre que les substituants OCH_3, Cl et Br n'ont aucune influence significative sur l'activité antiradicalaire des deux séries des composés étudiés, ce qui laisse penser que cette activité est liée au groupement amino NH et NH_2 dans les deux types de composés [40,108].

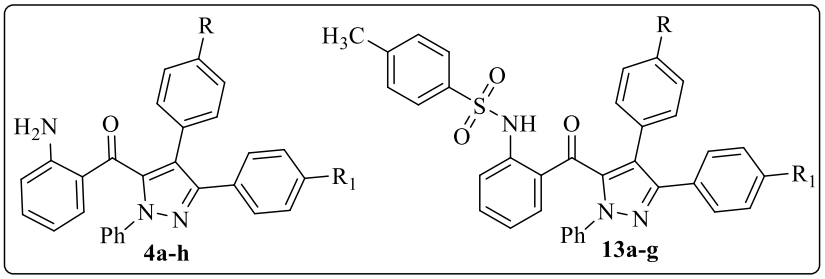


Figure III.33. Structures des pyrazoles **4(a-h)** et des pyrazoles-sulfonamide **13(a-g)**

Tableau III.11. Activité antioxydante des composés **4(a-h)**, **13(a-g)** et de la référence **BHT**

Pourcentage d'inhibition (PI) de l'activité antioxydante des composés testés (%)									
N°	***R***	***R_1***	***R_2***	**3 µg/ml**	**15 µg/ml**	**31 µg/ml**	**62.5 µg/ml**	**250 µg/ml**	**1000 µg/ml**
4a	H	H	-	**41,81±0,67**	**43,03±0,09**	**45,63±0,23**	**46,20±0,19**	**46,51±0,45**	**64,84±0,88**
4b	H	Cl	-	21,06±0,42	36,51±0,35	37,87±0,79	39,09±0,41	42,87±0,45	58,93±0,34
4c	OCH_3	H	-	**23,18±0,56**	**24,84±0,45**	**28,03±0,27**	**28,48±0,45**	**50,15±0,3**	**65,75±0,66**
4d	OCH_3	Cl	-	2,7±0,63	18,93±0,34	22,27±0,3	23,78±0,28	42,72±0,43	62,87±0,68
4[e]	Cl	H	-	**38,03±0,76**	**45±0,6**	**45,30±0,31**	**46,06±0,51**	**46,36±0,44**	**68,63±0,35**
4f	Cl	Cl	-	3,78±0,69	17,12±0,32	20,15±0,96	20,60±0,46	23,33±0,56	64,54±0,65
4g	Br	H	-	15±0,09	18,33±0,97	19,84±0,8	20,30±0,63	22,12±0,32	63,48±0,97
4h	Br	Cl	-	13,18±0,82	28,48±0,72	30,60±0,54	46,51±0,25	49,84±0,43	56,51±0,72
13a	H	H	tosyl	**25,30±0,67**	**25,75±0,85**	**29,39±0,94**	**35±0,54**	**38,63±0,22**	**62,27±0,37**
13b	H	Cl	tosyl	3,63±0,64	5,75±0,24	14,39±0,35	32,27±0,63	43,78±0,82	59,69±0,93
13c	OCH_3	H	tosyl	**14,84±0,8**	**24,24±0,86**	**44,84±0,24**	**45,60±0,34**	**47,42±0,76**	**64,54±0,17**
13d	OCH_3	Cl	tosyl	9,24±0,42	10,60±0,23	15±0,32	38,33±0,92	51,21±0,35	57,27±0,43
13[e]	Cl	H	tosyl	14,01±0,93	19,84±0,22	26,66±0,43	30±0,43	33,78±0,06	59,24±0,77
13f	Cl	Cl	tosyl	**14,39±0,39**	**22,87±0,98**	**36,66±0,7**	**43,18±0,23**	**43,93±0,76**	**66,21±0,76**
13g	Br	H	tosyl	**17,12±0,12**	**19,84±0,64**	**40,45±0,24**	**46,81±0,65**	**48,18±0,34**	**67,87±0,26**
BHT	---	---	---	43.93±0,93	59.09±0,09	63.63±0,63	75.75±0,75	80.30±0,30	87.87±0,87

VII.2. Activité antioxydante des pyrazoles portants une fonction amide

Le potentiel antioxydant des pyrazoles portants une fonction amide (*figure III. 34*) a été déterminé à l'aide de la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. L'interaction des échantillons testés avec le radical DPPH révèle leur capacité prometteuse de piégeage des radicaux libres. Cette activité augmente significativement avec l'augmentation de la concentration des composés testés (*tableau III.12*). Le pouvoir antioxydant des composés testés est confirmé par comparaison des valeurs de l'IC_{50}.

Les résultats des tests ont révélé que certains composés dans ces deux séries ont montré une activité antioxydante excellente. Les composés **11c** (IC_{50} = 10,5 µg/ml) **11e** (IC_{50} = 11,01 µg/ml) ont présenté des bonnes propriétés antioxydantes supérieures à celles de la référence BHT (IC_{50} = 11,14 µg/ml). De plus, les composés **11d** (IC_{50} = 11,3 µg/ml)**, 11h** (IC_{50} = 12,50 µg/ml) et **11g** (IC_{50}= 14,81 µg/ml) ont montré une activité significative de piégeage des radicaux en comparaison avec l'antioxydant standard. Les autres composés ont montré une

activité anti-radicalaire modérée. Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que les substituts (R, R_1 et R_2) semblent être un facteur important dans l'activité antiradicalaire. Généralement, les composés de la série **11a-h** sont plus efficaces vis-à-vis des radicaux libres que les composés de la série **12a-h**. Cette différence d'activité entre les deux séries semble trouver une interprétation dans la nature du groupement lié à la fonction amide et de l'effet donneur des substituants.

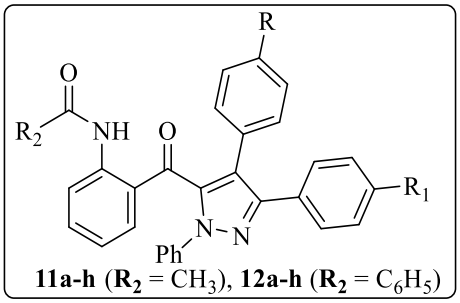


Figure III.34. Structure des molécules testées **(11a-h et 12a-h)**

Tableau III.12. **A**ctivité antioxydante des composés synthétisés et de la référence BHT.

Pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante des composés testés et Concentration Inhibitrice (IC_{50} (µg/ml))										
Réf.	**R**	**R_1**	**R_2**	**3 µg/ml**	**15 µg/ml**	**31 µg/ml**	**62,5 µg/ml**	**250 µg/ml**	**1000 µg/ml**	**IC_{50}**
11a	H	H	CH_3	19,09±0,83	36,47±0,54	42,62±0,29	43,44±0,26	**55,32±0,78**	**72,70±0,49**	187,5
11b	H	Cl	CH_3	43,60±0,65	45,57±0,37	47,04±0,91	49,18±0,03	51,47±0,54	61,72±0,13	93,5
11c	OCH_3	H	CH_3	**49,57±0,57**	**61,24±0,24**	**68,89±0,39**	**73,51±0,51**	**78,56±0,12**	**78,81±0,81**	**10,5**
11d	OCH_3	Cl	CH_3	**46,39±0,34**	**52,04±0,91**	**53,93±0,44**	**54,18±0,03**	**55,73±0,77**	**68,85±0,24**	**11,3**
11e	Cl	H	CH_3	**48,84±0,84**	**58,48±0,48**	**60,66±0,66**	**69,63±0,63**	**76,87±0,87**	**77,65±0,15**	**11,01**
11f	Cl	Cl	CH_3	47,37±0,70	49,67±0,21	49,91±0,80	50,81±0,96	52,21±0,31	59,34±0,42	43,8
11g	Br	H	CH_3	**39,91±0,2**	**52,21±0,1**	**55,32±0,78**	**58,11±0,47**	**65,08±0,19**	**70,16±0,39**	**14,81**
11h	Br	Cl	CH_3	**47,04±0,91**	**51,47±0,54**	**52,70±0,49**	**54,26±0,22**	**57,13±0,11**	**71,88±0,52**	**12,50**
12a	H	H	C_6H_5	29,26±0,22	39,34±0,42	40,49±0,18	40,65±0,57	41,47±0,54	52,62±0,29	750,13
12b	H	Cl	C_6H_5	32,21±0,31	35,81±0,96	36,31±0,14	36,88±0,52	40,32±0,78	53,68±0,85	642,2
12c	OCH_3	H	C_6H_5	33,19±0,67	45,73±0,77	48,93±0,44	49,01±0,63	51,63±0,93	68,36±0,06	90,5
12d	OCH_3	Cl	C_6H_5	24,83±0,60	31,72±0,13	31,96±0,72	33,19±0,67	34,42±0,62	36,31±0,14	-
12e	Cl	H	C_6H_5	26,06±0,55	32,95±0,08	42,62±0,29	43,77±0,04	44,75±0,40	45,73±0,77	-
12f	Cl	Cl	C_6H_5	8,19±0,67	14,26±0,22	18,36±0,06	19,09±0,83	20,73±0,77	27,37±0,70	-
12g	Br	H	C_6H_5	30,49±0,18	32,70±0,49	36,31±0,14	38,52±0,45	41,06±0,55	41,96±0,72	-
12h	Br	Cl	C_6H_5	39,75±0,40	49,18±0,03	49,18±0,03	51,22±0,95	51,88±0,52	52,29±0,50	46,5
BHT	-	-	-	43,93±0,93	59,09±0,09	63,63±0,63	75,75±0,75	80,30±0,30	87,87±0,87	11,14

VIII. Conclusion

Lors de ce chapitre, nous avons décrit, en premier lieu, quelques généralités sur les différentes méthodes de synthèse des dérivés de pyrazole ainsi que leurs propriétés biologiques. Les modifications structurales réalisées sur la structure de pyrazole, ont permis la préparation de nouveaux dérivés susceptibles de présenter des activités biologiques améliorées. En second lieu, nous avons développé une nouvelle méthodologie de synthèse permettant d'obtenir les

composés pyrazoliques par transformation des spiropyrazolines via une procédure efficace et pratique avec des bons rendements. Ensuite, nous avons préparé d'autres analogues de pyrazoles en faisant appel à des réaction de N-alkylation, d'acylation et de sulfonation des produits d'ouverture obtenus 5-(2-aminobenzoyl)pyrazoles **4(a-i)** et ce dans le but d'étudier l'effet de ces modifications sur l'activité biologique. La structure de tous les composés obtenus a été établie par différentes techniques spectroscopiques (RMN-^{1}H, RMN-^{13}C et IR) et confirmée par la spectrométrie de masse à haute résolution et des études cristallographiques. Les composés synthétisés ont été étudiés pour leur activité antimicrobienne contre certains micro-organismes pathogènes et aussi pour leur activité antioxydante. Les résultats obtenus montrent que l'introduction des groupements sulfonamide et amide permet d'améliorer remarquablement l'activité biologique. Ces résultats, nous ont incité à réaliser d'autres modifications dans la structure des pyrazoles comme l'insertion des motifs hétérocycliques en substitution des fonctions amide et sulfonamide, afin de développer de nouveaux systèmes susceptibles de présenter une activité biologique améliorée. Cette étude fait l'objet du dernier chapitre.

Partie expérimentale

a) Synthèse des 5-(2 aminobenzoyl)pyrazoles 4(a-i)

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant, on dissout une mole du cycloadduit **3(a-i)** dans 40 ml d'éthanol anhydre. Puis on ajoute à cette solution quelques gouttes de l'acide chlorhydrique. Le mélange est porté à reflux, l'avancement et la fin de la réaction est contrôlée par CCM. Ensuite, on élimine ¾ du solvant à l'évaporateur rotatif et on ajoute 60 ml de l'eau. Le précipité obtenu est filtré puis lavé abondamment avec de l'eau. Le solide est séché puis recristallisé dans l'éthanol.

5-(2-aminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (4a)**:** Rdt (88%); P.f.: 142-144 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3414, 3299 (NH_2), 1618 (C=O), 1587 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.80 (s, 2H, NH_2), 7.14-7.55 (m, 19H, aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm):124.11, 124.32, 124.43, 127.53, 128.07, 128.14, 128.36, 128.48, 128.54, 129.43, 130.24, 131.09, 132.05, 133.38, 135.28, 138.50, 139.42 (C=N), 150.06 (C-NH_2), 189.65 (C=O).

5-(2-aminobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-1,4-diphenyl-1H-pyrazole (4b)**:** Rdt (80%); P.f.: 176-178 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3480, 3353 (NH_2), 1618 (C=O), 1545 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.30 (s, 2H, NH_2), 6.37 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J= 7.05 Hz), 6.53 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.6 Hz), 7.12 (td, 1H, H_{ar}, J = 1.5 Hz, J = 7.05 Hz), 7.23 (s, 5H, aromatique), 7.28-7.32 (m, 4H , aromatique), 7.35-7.40 (m, 2H, aromatique), 7.51-7.55 (m, 4H, aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 115.92, 116.65, 118.13, 122.30, 123.70, 127.41, 127.87, 128.46, 128.56, 129.21, 129.71, 129.90, 131.05, 131.50, 133.74, 133.91, 135.49, 139.68, 140.00, 148.75 (C=N), 151.09 (C-NH_2), 190.44 (C=O).

5-(2-aminobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (4c)**:** Rdt (60%); P.f.: 110-112 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3470, 3343 (NH_2), 1616 (C=O), 1581 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.76 (s, 3H, OCH_3), 6.29 (s, 2H, NH_2) , 6.38 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.5 Hz) , 6.55 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1Hz) , 6.76 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.4Hz) , 7.13-7.38 (m, 10H , aromatique) , 7.51-7.59 (m, 4H , aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.13 (OCH_3), 113.81, 115.94, 116.63, 118.32, 122.04, 123.63, 123.99, 127.59, 127.87, 128.28, 128.41, 129.11, 131.08, 132.65, 133.84, 135.37, 139.64, 139.86, 149.88 (C=N), 151.03 (C-NH_2), 158.73 (C-O-CH_3), 190.91 (C=O).

5-(2-aminobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (4d)**:** Rdt (76 %); P.f.: 170-172 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3480, 3347 (NH_2), 1622 (C=O), 1582 (C=N);

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.77 (s, 3H, OCH_3), 6.29 (s, 2H, NH_2), 6.38 (td, 1H, H_{ar}, J = 1.2 Hz, J = 7.2 Hz), 6.54 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 8.4 Hz), 6.76-6.79 (m, 2H, aromatique), 7.10-7.16 (m, 3H, aromatique), 7.28-7.39 (m, 6H, aromatique), 7.51-7.54 (m, 4H, aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.13 ($O\underline{C}H_3$), 113.95, 115.95, 116.65, 118.21, 121.99, 123.61, 123.67, 127.74, 128.52, 128.61, 129.16, 129.63, 131.05, 131.19, 133.78, 133.81, 135.44, 139.75, 139.85, 148.74 ($\underline{C}$=N), 151.07 ($\underline{C}$-NH_2),158.8 (C-O-CH_3), 190.67 (C=O).

***5-(2-aminobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (4f)*:** Rdt (70 %); P.f.: 156-158 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3473, 3342 (NH_2), 1617 (C=O), 1541 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.31 (s, 2H, NH_2), 6.38 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 7.1 Hz), 6.56 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 7.13-7.27 (m, 5H, aromatique), 7.28-7.51 (m, 7H, aromatique), 7.52-7.55 (m, 4H, aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 116.03, 116.75, 118.07, 121.02, 123.68, 127.83, 128.14, 128.42, 128.58, 128.60, 129.18, 130.34, 131.18, 132.20, 133.18, 133.60, 135.61, 139.66, 139.84, 149.91 ($\underline{C}$=N), 151.12 ($\underline{C}$-NH_2), 190.45 (C=O); HRMS: masse calculée pour $[C_{28}H_{20}N_3ClONa]^+$ 472.1187, masse trouvée : 472.1177.

***5-(2-aminobenzoyl)-3,4-bis(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (4g)*:** Rdt (63%); P.f.: 204-206 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3414, 3351 (NH_2), 1618 (C=O), 1587 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.31 (s, 2H, NH_2), 6.38 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 7.2 Hz), 6.55-6.58 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 8.4 Hz), 7.13-7.24 (m, 6H , aromatique), 7.26-7.40 (m, 5H, aromatique), 7.48-7.55 (m, 4H, aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 116.03, 116.78, 118.00, 120.95, 123.66, 127.96, 128.66, 128.74, 129.21, 129.68, 130.06, 130.74, 131.14, 133.43, 133.52, 134.12, 135.66, 139.56, 140.04, 148.75 ($\underline{C}$=N), 151.15 ($\underline{C}$-NH_2), 190.20 (C=O).

***5-(2-aminobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-3-(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (4i)*:** Rdt (66%); P.f.: 196-198 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3492, 3352 (NH_2), 1621 (C=O), 1577 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.32 (s, 2H, NH_2), 6.37 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 7.2 Hz), 6.53 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 7.07-7.13 (m, 2H , aromatique), 7.13-7.16 (m, 1H, aromatique), 7.23-7.40 (m, 8H, aromatique), 7.47-7.53 (m, 4H , aromatique); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 116.05, 116.81, 117.96, 120.93, 121.67, 123.52, 123.66, 127.99, 128.69, 129.24, 129.70, 129.94, 130.54, 130.71, 131.45, 131.70, 133.51, 134.14, 135.71, 139.54, 140.00, 148.73 ($\underline{C}$=N), 151.18 ($\underline{C}$-NH_2), 190.18 (C=O).

b) Procédure de Synthèse des pyrazoles cibles 5-10

Dans un ballon, on dissout sous agitation magnétique pendant 15 min une mole de pyrazole **3(a-i)** et 1,2 mole de l'hydrure de sodium NaH dans 20 ml de DMF. Puis une mole de l'agent d'alkylation est additionnée au mélange réactionnel (cas des produits **5-9**) et 2 moles de CH_3I pour les composés **10a-d**. 0,5 mole de tétra-nbutylammonium BTBA est ajoutée comme catalyseur de transfert de phase liquide-solide. On maintient le mélange réactionnel sous agitation magnétique. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince CCM. Une fois la réaction est terminée, le solvant est évaporé et le résidu est extrait par le dichlorométhane. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4, filtrée, évaporée et purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice. Les composés cibles **5-10** sont obtenus avec de bons rendements.

5-(2-ethylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H pyrazole (5a) : Rdt (92 %); P.f.: 160-162 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3316 (N-H), 3075, 3054 and 3032 (C-H aromatique), 2958, 2920, 2866 (C-H aliphatique), 1613 (>C=O), 1575 (>C=N, pyrazole), 1515, 1499 (>C=C<, aromatique), 1455, 1427 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 1.32 (t, 3H, –C**H**$_3$, *J* = 7.2 Hz), 3.22-3.31 (m, 2H, –C**H**$_2$–), 6.27-6.33 (m, 1H, Ar–**H**), 6.61 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.7 Hz), 7.19-7.39 (m, 13H, Ar–**H**), 7.53-7.59 (m, 4H, Ar–**H**), 8.72 (t, 1H, N–**H**, *J* = 4.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 14.4 (**C**H_3), 37.2 (**C**H_2), 111.3, 114.1, 117.5, 122.1, 123.6, 127.0, 127.5, 127.9, 128.2, 128.4, 129.1, 129.9, 131.9, 132.5, 134.7, 136.0, 139.8, 139.9 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 151.7 (>**C**–NH–), 190.3 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS **(**m/z): masse calculée pour $[C_{30}H_{25}N_3O+ H]^+$: 444.20855, masse trouvée : 444.20888.

5-(2-ethylaminobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (6b): Rdt (84 %); P.f.: 146-148 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3314 (N-H), 3060 (C-H aromatique), 2969, 2936, 2873, 2836 (C-H aliphatique), 1618 (>C=O), 1568 (>C=N, pyrazole), 1498 (>C=C<, aromatique), 1458 and 1426 (C-N<), 1245 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 1.33 (t, 3H, –C**H**$_3$, *J* = 7.2 Hz), 3.22-3.31 (m, 2H, –C**H**$_2$–), 3.76 (s, 3H, –OC**H**$_3$), 6.29-6.34 (m, 1H, Ar–**H**), 6.61 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.7 Hz), 6.76 (d, 2H, Ar–**H**, *J* = 8.7 Hz), 7.13-7.20 (m, 2H, Ar–**H**), 7.22-7.38 (m, 8H, Ar–**H**), 7.52-7.60 (m, 4H, Ar–**H**), 8.73 (t, 1H, N–**H**, *J* = 4.8Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 14.4 (**C**H_3), 37.2 (**C**H_2), 55.1 (–O**C**H_3), 111.3, 113.7, 114.1, 117.5, 121.8, 123.5, 124.1, 127.5, 127.8, 128.2, 128.4, 129.1, 131.0, 132.7, 134.7, 136.0, 139.8, 139.9 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 151.7 (>**C**–NH–), 158.6 (>**C**–OCH_3), 190.5 (>C=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{27}N_3O_2+ H]^+$: 474.21785, masse trouvée : 474.21800.

5-(2-benzylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (6a): Rdt (70 %); P.f.: 170-172 °C; FT-IR (υ_{max}, cm^{-1}): 3312 (N-H), 3083, 3056 and 3031 (C-H aromatique), 2916 and 2852 (C-H aliphatique), 1613 (>C=O), 1569 (>C=N, pyrazole), 1515, 1496 (>C=C<, aromatique), 1428 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 4.51 (d, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 5.7 Hz), 6.31-6.36 (m, 1H, Ar–**H**), 6.55 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.7 Hz), 7.14-7.41 (m, 18H, Ar–**H**), 7.56-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 9.24 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 46.4 (**C**H_2), 112.0, 114.9, 118.2, 122.3, 123.7, 126.8, 127.2, 127.3, 127.8, 128.0, 128.4, 128.5, 128.7, 129.2, 129.9, 131.8, 132.5, 134.6, 136.1, 136.4, 138.2, 139.8, 140.0 (>**C**–N<), 149.9 (>**C**=N–),151.5 (>**C**–NH–), 190.7 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{35}H_{27}N_3O+H]^+$: 506.22281, masse trouvée : 506.22288.

5-(2-benzylaminobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (6b) **:** Rdt (88 %); P.f.: 188-190 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3313 (N-H), 3059, 3027 (C-H aromatique), 2931, 2834 (C-H aliphatique), 1621 (>C=O), 1563 (>C=N, pyrazole), 1492 (>C=C<, aromatique), 1446 (C-N<), 1236 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 3.77 (s, 3H, –OC**H**$_3$), 4.51 (d, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 6 Hz), 6.32-6.38 (m, 1H, Ar–**H**), 6.62-6.65 (m, 2H, Ar–**H**), 7.08-7.28 (m, 9H, Ar–**H**), 7.30-7.40 (m, 12H, Ar–**H**), 9.25 (t, 1H, N**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 46.4 (CH_2), 55.0 (–O**C**H_3), 111.9, 114.8, 118.2, 123.6, 125.5, 126.8, 127.2, 128.2, 128.3, 128.4, 128.7, 128.7, 129.1, 131.0, 131.9, 136.5, 138.2, 139.8, 140.0, 140.1 (>**C**–N<), 149.9 (>**C**=N–), 151.5 (>**C**–NH–), 158.7 (>**C**–OCH_3), 190.0 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z) : masse calculée pour $[C_{31}H_{27}N_3O_2H]^+$: 536.2335, masse trouvée : 536.2342.

5-(2-benzylaminobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (6c) **:** Rdt (65 %); P.f.: 138-140 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3335 (N-H), 3027 (C-H aromatique), 2915 and 2855 (C-H aliphatique), 1619 (>C=O), 1572 (>C=N, pyrazole), 1512, 1494 (>C=C<, aromatique), 1428 (C-N<), 757 (C-Cl); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 4.52 (d, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 6 Hz), 6.33-6.39 (m, 1H, Ar–**H**), 6.59 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 7.16-7.29 (m, 5H, Ar–**H**), 7.31-7.41 (m, 12H, Ar–**H**), 7.55-7.60 (m, 4H, Ar–**H**), 9.25 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 46.4 (**C**H_2), 112.1, 114.9, 118.1, 120.9, 123.6, 126.8, 127.3, 127.8, 128.1, 128.4, 128.4, 128.6, 128.7, 129.1, 131.1, 132.2, 133.1, 134.4, 136.2, 138.1, 139.7, 140.0 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),151.6 (>**C**–NH–), 190.5 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z) : masse calculée pour $[C_{35}H_{26}ClN_3O+H]^+$: 540.18507, masse trouvée : 540.18457.

5-(2-benzylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-1H-pyrazole (6d) **:** Rdt (76 %); P.f.: 152-154 °C; **IR** (υ_{max}, $cm^{-}1$): 3300 (N-H), 3061 and 3028 (C-H aromatique), 2917, 2859 (C-H aliphatique), 1617 (>C=O), 1573 (>C=N, pyrazole), 1519, 1496 (>C=C<, aromatique), 1428

(C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 2.31 (s, 3H, –C**H**$_3$), 4.51 (d, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 6 Hz), 6.34-6.35 (m, 1H, Ar–**H**), 6.55 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 6.80-6.90 (m, 2H, Ar–**H**), 7.02-7.08 (m, 2H, Ar–**H**), 7.12-7.15 (m, 3H, Ar–**H**), 7.20-7.29 (m, 2H, Ar–**H**), 7.30-7.39 (m, 5H, Ar–**H**), 7.54-7.62 (m, 6H, Ar–**H**), 9.24 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm) : 21.2 (**C**H_3), 46.3 (**C**H_2), 111.8, 114.8, 118.3, 122.2, 123.6, 126.8, 127.2, 127.6, 127.8, 128.1, 128.2, 128.4, 128.6, 129.0, 129.1, 129.6, 132.6, 134.6, 135.9, 136.5, 136.7, 138.2, 139.9 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),151.4 (>**C**–NH–), 190.9 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{36}H_{29}N_3O+ H]^+$: 520.23963, masse trouvée : 520.23941.

5-(2-allylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (7a) **:** Rdt (66 %); P.f.: 148-150 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3292 (N-H), 3061 and 3026 (=CH vinylique et C-H aromatique), 2985, 2913, 2854 (C-H aliphatique), 1616 (>C=O), 1568 (>C=N, pyrazole), 1515, 1497 (>C=C<, aromatique), 1429 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.89-3.94 (m, 2H, –C**H**$_2$–), 5.18-5.25 (m, 2H, =C**H**$_2$ allylique), 5.89-5.99 (m, 1H, –C**H**= allylique), 6.31-6.36 (m, 1H, Ar–**H**), 6.58 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 7.18-7.39 (m, 13H, Ar–**H**), 7.53-7.60 (m, 4H, Ar–**H**), 8.96 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 44.7 (–**C**H_2–), 111.7, 114.5, 116.1 (=**C**H_2 allylique), 117.9, 123.6, 127.1, 127.8, 127.9, 128.3, 128.4, 128.6, 129.1, 129.9, 131.8, 132.5, 133.8, 134.6, 135.9 (–**C**H= allylique), 138.1, 139.8, 139.9 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),151.6 (>**C**–NH–), 190.6 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{25}N_3O+ H]^+$: 456.20782, masse trouvée : 456.20812.

5-(2-allylaminobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (7b) **:** Rdt (73 %); P.f.: 146-148 °C; FT-IR (υ_{max}, cm^{-1}): 3346 (N-H), 3060 and 3026 (=CH vinylique, C-H aromatique), 2985, 2954, 2835 (C-H aliphatique), 1614 (>C=O), 1567 (>C=N, pyrazole), 1497 (>C=C<, aromatique), 1424 (C-N<), 1242 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.77 (s, 3H, –OC**H**$_3$), 3.89-3.93 (m, 2H, –C**H**$_2$–), 5.17-5.26 (m, 2H, =C**H**$_2$ allylique), 5.87-5.99 (m, 1H, –C**H**= allylique), 6.31-6.37 (m, 1H, Ar–**H**), 6.59 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 6.74-6.78 (m, 2H, Ar–**H**), 7.13-7.38 (m, 10H, Ar–**H**), 7.52-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 8.96 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 44.7 (–**C**H_2–), 55.1 (–O**C**H_3), 111.7, 113.8, 114.5, 116.1 (=**C**H_2 allylique), 117.9, 121.1, 121.8, 123.5, 124.0, 127.5, 127.8, 128.2, 128.4, 128.6, 129.1, 131.0, 132.6, 133.8, 134.6, 135.9 (–**C**H= allylique), 139.8, 139.8 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),151.6 (>**C**–NH–),158.6 (>**C**–OCH_3), 190.8 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{32}H_{27}N_3O_2+H]^+$: 486.21761, masse trouvée : 486.21814.

5-(2-allylaminobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (7c) **:** Rdt (69 %); P.f.: 130-132 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3352 (N-H), 3081, 3062, 3015 (=CH vinylique, C-H aromatique), 2982, 2983 and 2839 (C-H aliphatique), 1613 (>C=O), 1566 (>C=N, pyrazole), 1496 (>C=C<, aromatique), 1421 (C-N<), 726 (C-Cl); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.90-3.95 (m, 2H, –C**H**$_2$–), 5.19-5.27 (m, 2H, =C**H**$_2$ allylique), 5.87-6.00 (m, 1H, –C**H**= allylique), 6.31-6.36 (m, 1H, Ar–**H**), 6.61 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.7 Hz), 7.14-7.39 (m, 12H, Ar–**H**), 7.52-7.57 (m, 4H, Ar–**H**), 8.96 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 44.7 (–**C**H_2–), 111.8, 114.6, 116.2 (=**C**H_2 allylique), 117.7, 120.8, 123.6, 127.7, 128.1, 128.4, 128.6, 129.1, 130.4, 131.1, 132.2, 133.1, 133.7, 134.4, 136.2 (–**C**H= allylique), 139.7, 140.0 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),151.7 (>**C**–NH–), 190.3 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{24}ClN_3O+ H]^+$: 490.16939, masse trouvée : 490.16973.

5-(2-propargylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (8a) **:** Rdt (57 %); P.f.: 178-180 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3329 (N-H), 3282 (≡CH propargylique), 3060 (C-H aromatique), 2910, 2853 (C-H aliphatique), 1616 (>C=O), 1562 (>C=N, pyrazole), 1496 (>C=C<, aromatique), 1426 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.26 (t, 1H, –C≡C**H**, *J* = 2.4Hz), 4.04 (dd, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 2.4, 5.7Hz), 6.38-6.44 (m, 1H, Ar–**H**), 6.72 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.1Hz), 7.21-7.41 (m, 13H, Ar–**H**), 7.50-7.59 (m, 4H, Ar–**H**), 8.85 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 32.2 (–**C**H_2–), 71.5 (–C≡**C**H), 79.7 (–**C**≡CH), 111.5, 115.5, 118.6, 122.4, 123.7, 127.1, 127.7, 127.9, 128.2, 128.3, 128.4, 129.1, 129.9, 130.8, 131.7, 132.4, 134.6, 136.0, 139.7, 139.7 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–),150.5 (>**C**–NH–), 190.8 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{23}N_3O+ H]^+$: 454.19237, masse trouvée : 454.19251.

4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-5-(2-propargylaminobenzoyl)-1H-pyrazole (8b) **:** Rdt (68 %); P.f.: 170-172 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3323 (N-H), 3247 (≡CH propargylique), 3042 (C-H aromatique), 2956, 2914, 2834 (C-H aliphatique), 1617 (>C=O), 1566 (>C=N, pyrazole), 1496 (>C=C<, aromatique), 1427 (C-N<), 1245 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.26 (t, 1H, –C≡C**H**, *J* = 2.4Hz), 3.76 (s, 3H, –OC**H**$_3$), 4.04 (dd, 2H, –C**H**$_2$–, *J* = 2.4, 5.7Hz), 6.04-6.45 (m, 1H, Ar–**H**), 6.71-6.78 (m, 3H, Ar–H), 7.12-7.16 (m, 2H, Ar–**H**), 7.25-7.41 (m, 8H, Ar–**H**), 7.51-7.57 (m, 2H, Ar–**H**), 7.58-7.61 (m, 2H, Ar–**H**), 8.86 (t, 1H, N-**H**, *J* = 5.7Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 32.2 (–**C**H_2–), 55.1 (–O**C**H_3), 71.5 (–C≡**C**H), 79.7 (–**C**≡CH), 111.6, 113.8, 115.5, 118.6, 122.1, 123.6, 123.9, 127.6, 127.7, 127.8, 128.2, 128.4, 129.1, 131.0, 132.6, 134.7, 136.0, 139.8(>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 150.5 (>**C**–NH–),

158.7 (>**C**–OCH_3), 190.0 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{32}H_{25}N_3O_2+ H]^+$: 484.20195, masse trouvée : 484.20220.

5-(2-methylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (9a) **:** Rdt (83 %); P.f.: 200-202 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3316 (N-H), 3051 (C-H aromatique), 2984, 2900, 2868, 2817 (C-H aliphatique), 1618 (>C=O), 1569 (>C=N, pyrazole), 1522 and 1499 (>C=C<, aromatique), 1424 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.92 (d, 3H, –C**H**$_3$, *J* = 5.1 Hz), 6.30-6.35 (m, 1H, Ar–**H**), 6.60 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 7.20-7.39 (m, 13H, Ar–**H**), 7.53-7.55 (m, 4H, Ar–**H**), 8.81 (q, 1H, N–**H**, , *J* = 4.8 Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 29.3(**C**H_3), 110.9, 114.2, 117.5, 123.7, 127.1, 127.6, 127.9, 128.3, 128.5, 129.1, 129.9, 131.8, 132.5, 134.7, 136.1, 139.8, 139.9 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 152.7 (>**C**–NH–), 190.4 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{29}H_{23}N_3O+ H]^+$: 430.19312, masse trouvée : 430.19316.

4-(4-methoxyphenyl)-5-(2-methylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (9b) **:** Rdt (89 %); P.f.: 176-178 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3309 (N-H), 3052, 3005 (C-H aromatique), 2933, 2905, 2834 (C-H aliphatique), 1617 (>C=O), 1570 (>C=N, pyrazole), 1519 and 1497 (>C=C<, aromatique), 1427 (C-N<), 1286 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.92 (d, 3H, –C$\underline{H}_3$, *J* = 5.1Hz), 3.77 (s, 3H, OC$\underline{H}_3$), 6.34-6.37 (m, 1H, Ar–$\underline{H}$), 6.61 (d, 1H, Ar–$\underline{H}$, *J* = 8.4 Hz), 6.76-6.79 (m, 2H, Ar–$\underline{H}$), 7.12-7.16 (m, 2H, Ar–$\underline{H}$), 7.27-7.38 (m, 8H, Ar–$\underline{H}$), 7.51-7.55 (m, 4H, Ar–$\underline{H}$), 8.80 (q, 1H, N–H, , *J* = 5.4Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 29.2 ($\underline{C}H_3$), 55.1 (–O$\underline{C}H_3$), 110.9, 113.9, 114.2, 117.5, 123.5, 123.7, 127.6, 128.2, 128.5, 129.1, 129.6, 131.0, 131.2, 133.7, 134.6, 136.2, 139.8, 140.0 (>$\underline{C}$–N<), 148.7 (>$\underline{C}$=N–), 152.7 (>$\underline{C}$–NH–),158.8 (>$\underline{C}$–OCH_3), 190.4 (>$\underline{C}$=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{30}H_{25}N_3O_2+ H]^+$: 460.20398, masse trouvée : 460.20405.

4-(4-chlorophenyl)-5-(2-methylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (9c) **:** Rdt (76 %); P.f.: 174-176 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3350 (N-H), 3073, 3056, 3027 (C-H aromatique), 2920, 2906, 2881 (C-H aliphatique), 1619 (>C=O), 1566 (>C=N, pyrazole), 1518, 1497 (>C=C<, aromatique), 1424 (C-N<), 725 (C-Cl); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.93 (d, 3H, –C**H**$_3$, *J* = 5.1Hz), 6.32-6.37 (m, 1H, Ar–**H**), 6.63 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 7.14-7.21 (m, 4H, Ar–**H**), 7.25-7.39 (m, 7H, Ar–**H**), 7.53-7.58 (m, 4H, Ar–**H**), 8.81 (q, 1H, N–**H**, , *J* = 5.7Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 29.3 (**C**H_3), 111.1, 114.3, 117.4, 120.7, 123.6, 127.7, 128.1, 128.4, 128.4, 128.6, 129.1, 130.4, 131.1, 132.3, 133.1, 134.5, 136.3, 139.7, 140.0 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 152.8 (>**C**–NH–),190.1 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{29}H_{22}ClN_3O+ H]^+$: 464.15393, masse trouvée : 464.15401.

5-(2-methylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-1H-pyrazole (9d) **:** Rdt (91 %); P.f.: 172-174 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3318 (N-H), 3058, 3023 (C-H aromatique), 2977, 2918, 2868, 2816 (C-H aliphatique), 1618 (>C=O), 1568 (>C=N, pyrazole), 1518 and 1498 (>C=C<, aromatique), 1423 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.29 (s, 3H, –C**H**$_3$), 2.92 (d, 3H, –C**H**$_3$, *J* = 5.1Hz), 6.31-6.37 (m, 1H, Ar–**H**), 6.61 (d, 1H, Ar–**H**, *J* = 8.4 Hz), 7.02 (d, 2H, Ar–**H**, *J* = 7.8 Hz), 7.12 (d, 2H, Ar–**H**, *J* = 8.1 Hz), 7.23-7.38 (m, 8H, Ar–**H**), 7.52-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 8.82 (q, 1H, N–**H**, *J* = 6Hz); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.2 (**C**H_3), 29.3 (**C**H_3), 110.9, 114.2, 117.6, 122.0, 123.6, 127.5, 127.8, 128.2, 128.4, 128.7, 129.0, 129.1, 129.7, 132.7, 134.7, 136.1, 136.7, 139.8, 139.9 (>**C**–N<), 149.9 (>**C**=N–), 152.7 (>**C**–NH–),190.6 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{30}H_{25}N_3O+ H]^+$: 444.20926, masse trouvée : 444.20927.

5-(2-dimethylaminobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (10a) **:** Rdt (55 %); P.f.: 180-182 °C; **IR** (υ_{max}, $cm^{-}1$): 3057 (C-H aromatique), 2995, 2926, 2880, 2808 (C-H aliphatique), 1624 (>C=O), 1596 (>C=N, pyrazole), 1544 and 1496 (>C=C<, aromatique), 1409 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.67 (s, 6H, C**H**$_3$), 6.66-6.74 (m, 2H, Ar–**H**), 7.18-7.37 (m, 12H, Ar–**H**), 7.49-7.59 (m, 5H, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 43.9 (2 **C**H_3), 116.3, 118.1, 123.3, 124.8, 126.8, 127.3, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.7, 130.7, 132.0, 132.5, 133.5,133.9, 139.8, 140.5 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 152.4 (>**C**–N(CH_3)$_2$),186.7 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{30}H_{25}N_3O+ H]^+$: 4744.20704, masse trouvée : 444.20696.

4-(4-methoxyphenyl)-5-(2-dimethylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (10b): Rdt (67 %); P.f.: 134-136 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3062, 3000 (C-H aromatique), 2961, 2836 (C-H aliphatique), 1629 (>C=O), 1597 (>C=N, pyrazole), 1544, 1497 (>C=C<, aromatique), 1420 (C-N<), 1243 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.67 (s, 6H, –C**H**$_3$),3.78 (s, 3H, –OC**H**$_3$), 6.67-6.77 (m, 4H, Ar–**H**), 7.15-7.24 (m, 2H, Ar–**H**), 7.26-7.35 (m, 7H, Ar–**H**), 7.46-7.58 (m, 5H, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 44.0 (2 –**C**H_3), 55.1 (–O-**C**H_3), 113.4, 116.3, 118.2, 124.8, 127.7, 127.7, 128.1, 128.2, 128.7, 131.9, 133.4, 133.8, 140.0, 140.5 (>**C**–N<), 149.9 (>**C**=N–), 152.4 (>**C**–N(CH_3)$_2$), 158.7 (>**C**–OCH_3), 186.9 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{27}N_3O_2+ H]^+$:474.21868, masse trouvée : 474.21889.

4-(4-chlorophenyl)-5-(2-dimethylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (10c) **:** Rdt (59 %); P.f.: 164-166 °C; **IR** (υ_{max}, $cm^{-}1$): 3062 (C-H aromatique), 2960, 2925, 2810 (C-H aliphatique), 1626 (>C=O), 1595 (>C=N, pyrazole), 1544, 1497 (>C=C<, aromatique), 1414

(C-N<), 729 (C-Cl); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.67 (s, 6H, –C**H**$_3$), 6.67-6.76 (m, 2H, Ar–**H**), 7.20-7.24 (m, 4H, Ar–**H**), 7.25-7.34 (m, 1H, Ar–**H**), 7.36-7.37 (m, 6H, Ar–**H**), 7.48-7.53 (m, 5H, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 44.1 (2 –**C**H_3), 116.5, 118.5, 122.1, 124.9, 126.9, 128.0, 128.0, 128.2, 128.3, 128.7, 130.6, 132.0, 132.2, 133.3,133.6, 133.6, 139.8, 140.5 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 152.5 (>**C**–N(CH_3)$_2$), 186.5 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{30}H_{24}ClN_3O+ H]^+$: 478.16992, masse trouvée : 478.17013.

5-(2-dimethylaminobenzoyl)-1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-1H-pyrazole (10d) **:** Rdt (67 %); P.f.: 158-160 °C; **IR** (υ_{max}, cm^{-}1): 3060 (C-H aromatique), 2923, 2808 (C-H aliphatique), 1625 (>C=O), 1595 (>C=N, pyrazole), 1545, 1496 (>C=C<, aromatique), 1419 (C-N<); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.3 (s, 3H, –C**H**$_3$),2.68 (s, 6H, –C**H**$_3$), 6.67-6.74 (m, 2H, Ar–**H**), 7.01 (d, 2H, Ar–**H**, *J* = 7.8Hz), 7.12-7.15 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.34 (m, 7H, Ar–**H**), 7.47-7.59 (m, 5H, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.2 (–**C**H_3), 44.0 (2 –**C**H_3), 116.2, 118.1, 123.4, 124.8, 126.8, 127.7, 127.7, 128.1, 128.1, 128.7, 128.9, 130.5, 132.6, 133.4, 134.0, 136.9, 139.9, 140.5 (>**C**–N<), 149.8 (>**C**=N–), 152.4 (>**C**–N(CH_3)$_2$), 186.8 (>**C**=O); ESI-QTOF-MS (m/z): masse calculée pour $[C_{31}H_{27}N_3O_2+ H]^+$: 458.22451, masse trouvée : 458.22503.

c) Synthèse des pyrazoles portants la fonction acétamide 11(a-h)

Dans un ballon de 50 ml muni d'un réfrigérant, on introduit 5 mole du 5-(2-aminobenzoyle)pyrazole dans 20 ml de l'anhydride acétique. Une fois la réaction est terminée le mélange est versé dans 200 ml de l'eau, puis extrait avec le dichlorométhane. La phase organique est lavée 3 fois avec une solution saturée de $NaHCO_3$ et de l'eau. La solution obtenue est séchée sur sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est cristallisé dans l'éthanol.

5-(2-acetamidobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (11a)**:** Rdt (61 %); P.f.: 170-172 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3266 (NH), 1698 (C=O)$_{amide}$, 1632 (C=O), 1577 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.25 (s, 3H, CH_3), 6.82 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 8.3 Hz), 7.15-7.22 (m, 5H, H_{ar}), 7.28-7.42 (m, 7H, H_{ar}), 7.47-7.57 (m, 5H, H_{ar}),8.60 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 9.0 Hz) , 11.15 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 25.63 (CH_3), 120.26, 121.97, 122.30, 123.90, 123.95, 127.60, 128.20, 128.40, 128.51, 129.48, 129.92, 131.24, 132.01, 133.67, 136.09, 138.99, 139.50 (C$_{ar}$-N), 141.31 (C=N), 150.08 (C-NH), 169.53 (C=O$_{amide}$), 192.18 (C=O$_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{23}N_3O_2Na]^+$ 480.1682, masse trouvée : 480.1680.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-1,4-diphenyl-1H-pyrazole (11b)*:** Rdt (53 %); P.f.: 196-198 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3272 (NH), 1701 $(C=O)_{amide}$, 1633 (C=O), 1583 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.25 (s, 3H, CH_3), 6.81 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.3 Hz), 7.13-7.53 (m, 16H, H_{ar}), 8.59 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 11.13 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 25.60 ($\underline{C}H_3$), 120.30, 121.87, 122.30, 123.79, 123.92, 127.80, 128.33, 128.63, 129.42, 129.61, 129.86, 130.54, 130.96, 133.61, 134.16, 136.07, 139.14, 139.38 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.33 ($\underline{C}$=N), 148.93 ($\underline{C}$-NH), 169.53 ($C=O_{amide}$), 191.99 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{22}N_3ClO_2Na]^+$ 514.1292, masse trouvée : 514.1284.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (11c)*:** Rdt (66%); P.f.: 184-186 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3285 (NH), 1693 $(C=O)_{amide}$, 1627 (C=O), 1582 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.26 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 3.76 (s, 3H, $O\underline{C}H_3$), 6.75 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.7 Hz), 6.82 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 7.08 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.7 Hz), 7.28-7.58 (m, 12H, H_{ar}), 8.60 (d, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz), 11.13 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 25.60 ($\underline{C}H_3$), 55.16 ($O\underline{C}H_3$), 113.99, 120.28, 122.00, 122.31, 123.36, 123.60, 123.88, 128.09, 128.35, 129.34, 131.10, 132.16, 133.6, 135.99, 138.84, 139.53 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.31 ($\underline{C}$=N), 150.10($\underline{C}$-NH), 158.98 ($\underline{C}$-O-CH_3), 169.50 ($C=O_{amide}$), 192.37 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{31}H_{25}N_3O_3Na]^+$ 510.1788, masse trouvée : 510.1774.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (11d)*:** Rdt (70 %); P.f.: 216-218 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3305 (NH), 1702 $(C=O)_{amide}$, 1640 (C=O), 1576 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.26 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 3.76 (s, 3H, $O\underline{C}H_3$), 6.76 (d, 2H, H_{ar}, J = 9.0 Hz), 6.82 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.1Hz), 7.07 (d, 2H, H_{ar}, J = 9.0 Hz), 7.28-7.53 (m, 11H, H_{ar}), 8.61 (d, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz), 11.13 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 25.61 ($\underline{C}H_3$), 55.18 ($O\underline{C}H_3$), 114.12, 120.30, 121.88, 122.30, 123.03, 123.51, 123.84, 128.22, 128.61, 129.38, 129.56, 130.70, 131.06, 133.66, 134.07, 136.04, 139.00, 139.57 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.38 ($\underline{C}$=N), 148.95 ($\underline{C}$-NH), 159.12 ($\underline{C}$-O-CH_3), 169.45 ($C=O_{amide}$), 192.18 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{31}H_{24}N_3ClO_3Na]^+$ 544.1398, masse trouvée : 544.1383.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (11e)*:** Rdt (58 %); P.f.: 180-182 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3317 (NH), 1693 $(C=O)_{amide}$, 1639 (C=O), 1578 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.26 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.83 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 7.11-7.14 (m, 2H, H_{ar}), 7.19-7.25 (m, 2H, H_{ar}), 7.32-7.56 (m, 12H, H_{ar}), 8.64 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 11.15 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 25.60 ($\underline{C}H_3$), 120.41, 121.8,0 122.36, 122.50, 123.90, 128.30, 128.37, 128.42, 128.50, 128.81,

129.39, 129.84, 131.23, 131.77, 133.52, 133.69, 136.24, 139.04, 139.43 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.49 ($\underline{C}$=N), 150.16 ($\underline{C}$-NH), 169.44 (C=O_{amide}), 192.00 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{22}N_3ClO_2Na]^+$ 544.1292, masse trouvée : 544.1279.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-3,4-bis(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (11f)*:** Rdt (77 %); P.f.: 212-214 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3321 (NH), 1704 $(C=O)_{amide}$, 1633 (C=O), 1577 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 2.26 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.83 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 8.1 Hz), 7.09-7.11 (m, 2H, H_{ar}), 7.21-7.23 (m, 2H, H_{ar}), 7.30-7.49 (m, 11H, H_{ar}), 8.63 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 11.11 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 25.58 ($\underline{C}H_3$), 120.43, 121.68, 122.33, 123.86, 128.42, 128.74, 128.95, 129.42, 129.53, 129.61, 130.27, 131.15, 133.46, 133.92, 134.39, 136.31, 139.01, 139.33 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.53 ($\underline{C}$=N), 149.00 ($\underline{C}$-NH), 169.42 (C=O_{amide}), 191.81 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{21}N_3Cl_2O_2Na]^+$ 548.0903, masse trouvée : 548.0891.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (11g)*:** Rdt (72 %); P.f.: 190-192 °C; IR-FT (neat, *v*, cm^{-1}): 3301 (NH), 1701 $(C=O)_{amide}$, 1629 (C=O), 1579 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 2,26 (s, 3H, CH_3), 6,83 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 8,4 Hz), 7,05 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8,4 Hz), 7,28-7,55 (m, 14H, H_{ar}) , 8,63 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 9,0 Hz) , 11,14 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz. $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 25.62 ($\underline{C}H_3$), 120.40, 121.74, 121.89, 122.37, 122.47, 123.89, 128.23, 128.31, 128.38, 128.42, 128.51, 129.40, 130.28, 131.50, 131.70, 131.75, 133.52, 136.37, 138.95, 139.49 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.58 ($\underline{C}$=N), 150.13 ($\underline{C}$-NH), 169.50 (C=O_{amide}), 191.99 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{22}N_3BrO_2Na]^+$ 558.0787, masse trouvée : 558.0777.

***5-(2-acetamidobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-3-(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (11h)*:** Rdt (81 %); P.f.: 202-204 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3319 (NH), 1705 $(C=O)_{amide}$, 1630 (C=O), 1577 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 2.26 (s, 3H, CH_3), 6.82 (t, 1H, H_{ar}, *J* = 8.1 Hz), 7.03 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 7.28-7.39 (m, 7H, H_{ar}), 7.41-7.48 (m, 6H, H_{ar}), 8.62 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 9.0 Hz), 11.12 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): 25.61 ($\underline{C}H_3$), 120.43, 121.63, 122.10, 122.36, 123.86, 128.45, 128.76, 129.44, 129.62, 129.98, 130.22, 131.43, 131.89, 133.47, 134.40, 136.35, 139.12, 139.27 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.52 ($\underline{C}$=N), 149.18 ($\underline{C}$-NH), 169.48 (C=O_{amide}), 191.79 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{30}H_{21}N_3BrClO_2Na]^+$ 592.0397, masse trouvée : 592.0387.

d) Synthèse des pyrazoles portants la fonction amide 12(a-h)

Dans un erlenmeyer de 100 ml, on place sous agitation magnétique une mole de l'un composés **4(a-h)** et 2 ml de la triéthylamine dans 20 ml de chloroforme. La solution est

refroidie à 0 °C dans un bain de glace. Après on ajoute 1 mole du chlorure de benzoyle par petites portions et cela sans que la température ne dépasse 0 °C. Une fois l'addition terminée, on maintient le mélange réactionnel sous agitation magnétique pendant une nuit. Le brut réactionnel est transféré dans une ampoule à décanter puis lavé plusieurs fois avec de l'eau. Le résidu obtenu est purifié sur colonne de gel de silice en utilisant un mélange d'hexane et d'éther éthylique (4/1) comme liquide vecteur.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (12a)*:** Rdt (84 %); P.f.: 162-164 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3283 (NH), 1683 $(C=O)_{amide}$, 1629 (C=O), 1578 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.88 (td, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 7.2 Hz), 7.20 (s, 5H, H_{ar}), 7.28-7.42 (m, 6H, H_{ar}), 7.45-7.63 (m, 9H, H_{ar}), 8.06-8.01 (m, 2H, H_{ar}), 8.84 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz , J = 8.1 Hz), 12.12 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.45, 122.53, 122.68, 123.82, 127.58, 127.61, 128.16, 128.20, 128.40, 128.43, 128.55, 128.93, 129.40, 129.88, 131.19, 132.04, 132.27, 133.87, 134.49, 136.21, 139.00, 139.47, 141.63 (C=N), 150.11 (C-NH), 166.05 ($C=O_{amide}$), 192.82 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{25}N_3O_2Na]^+$ 542.1839, masse trouvée : 542.1832.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-1,4-diphenyl-1H-pyrazole (12b)*:** Rdt (67 %); P.f.: 186-188 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3284 (NH), 1683 $(C=O)_{amide}$, 1629 (C=O), 1577 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.88 (td, 1H, H_{ar}, J = 1.2Hz, J = 8.1 Hz), 7.16-7.24 (m, 4H, H_{ar}), 7.28-7.42 (m, 6H, H_{ar}), 7.46-7.60 (m, 9H, H_{ar}), 8.05-8.08 (m, 2H, H_{ar}), 8.83 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 8.4 Hz), 12.08 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.49, 122.51, 123.79, 127.57, 127.81, 128.28, 128.63, 128.67, 128.92, 129.43, 129.62, 129.82, 130.57, 130.91, 132.27, 133.75, 134.17, 134.47, 136.27, 139.16, 139.36, 141.66 (C=N), 148.95 (C-NH), 166.03 ($C=O_{amide}$), 192.61 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{24}N_3ClO_2Na]^+$ 576.1449, masse trouvée : 576.1439.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-1,3-diphenyl-4-(4-methoxyphenyl)-1H-pyrazole (12c)*:** Rdt (59 %); P.f.: 112-114 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3273 (NH), 1713 $(C=O)_{amide}$, 1636 (C=O), 1591 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.76 (s, 3H, OCH_3), 6.75 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.7 Hz), 6.89 (td, 1H, H_{ar}, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz), 7.11 (d, 2H, H_{ar}, J = 7.7 Hz), 7.30-7.40 (m, 6H, H_{ar}), 7.48-7.61 (m, 9H, H_{ar}), 8.07 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.8 Hz, J = 8.4 Hz), 8.84 (d, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 8.4 Hz), 12.11 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.15 (CH_3), 114.02, 120.47, 122.54, 122.62, 123.32, 123.77, 127.58, 128.04, 128.11, 128.36, 128.91, 129.35, 131.06, 132.23, 133.84, 134.44, 136.15, 138.84, 139.54,

141.64 (C=N), 150.11(C-NH), 159.00 (C-O-CH_3), 166.04 (C=O_{amide}), 193.04(C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{36}H_{27}N_3O_3Na]^+$ 572.1944, masse trouvée : 572.1930.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (12d)*:** Rdt (60 %); P.f.: 140-142 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3282 (NH), 1683 (C=O)$_{amide}$, 1629 (C=O), 1581 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 3.76 (s, 3H, OCH_3), 6.76 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.7 Hz), 6.9 (td, 1H, H_{ar}, J = 1.1 Hz, J = 7.6 Hz), 7.11 (d, 2H, H_{ar}, J = 7.7 Hz), 7.28-7.41 (m, 6H, H_{ar}), 7.46-7.60 (m, 9H, H_{ar}), 8.07 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.5 Hz, J = 8.1 Hz), 8.85 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.9 Hz, J = 8.4 Hz), 12.11 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 55.18 (CH_3), 114.15, 120.50, 122.50, 122.55, 122.98, 123.43, 123.73, 127.57, 128.19, 128.61, 128.92, 129.41, 129.58, 130.72, 131.02, 132.27, 133.81, 134.08, 134.40, 136.25, 139.00, 139.43, 141.68 (C=N), 148.97 (C-NH), 159.13 (C-O-CH_3), 166.03 (C=O_{amide}), 192.81 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{36}H_{26}N_3ClO_3Na]^+$ 606.1554, masse trouvée : 606.1538.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (12e)*:** Rdt (72 %); P.f.: 198-200 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3279 (NH), 1718 (C=O)$_{amide}$, 1681 (C=O), 1582 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.90 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 7.13-7.23 (m, 4H, H_{ar}), 7.28-7.41 (m, 6H, H_{ar}), 7.48-7.61 (m, 9H, H_{ar}), 8.08 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.5 Hz, J = 8.1 Hz), 8.87 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 12.12 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.68, 122.38, 122.44, 122.62, 123.80, 127.58, 128.21, 128.30, 128.44, 128.52, 128.86, 128.96, 129.44, 129.76, 129.91, 131.18, 131.75, 132.33, 133.70, 134.35, 136.47, 139.01, 139.36(C_{ar}-N), 141.76 (C=N), 150.20(C-NH), 166.06 (C=O_{amide}), 192.60 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{24}N_3ClO_2Na]^+$ 576.1449, masse trouvée : 576.1437.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-3.4-bis(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (12f)*:** Rdt (61 %); P.f.: 214-216 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3280 (NH), 1683 (C=O)$_{amide}$, 1629 (C=O), 1581 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.90 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.5 Hz), 7.12-7.41 (m, 9H, H_{ar}), 7.46-7.64 (m, 8H, H_{ar}), 8.07 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 8.86 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.7 Hz), 12.08 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.64, 122.30, 122.58, 123.76, 127.56, 128.41, 128.76, 128.95, 128.99, 129.46, 129.64, 130.28, 131.12, 132.33, , 133.62, 133.93, 134.33, 134.49, 136.53, 139.18, 139.26 (C_{ar}-N), 141.81 (C=N), 149.03 (C-NH), 166.03 (C=O_{amide}), 192.38 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{23}Cl_2N_3O_2Na]^+$ 610.1059, masse trouvée : 610.1058.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (12g)*:** Rdt (55 %); P.f.: 168-170 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3283 (NH), 1683 $(C=O)_{amide}$, 1629 (C=O), 1578 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.90 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.5 Hz), 7.08 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.5Hz ,J = 6.6 Hz), 7.28-7.41 (m, 7H, H_{ar}), 7.48-7.61 (m, 9H, H_{ar}), 8.06-8.1 (m, 2H, H_{ar}), 8.87 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 12.12 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.66, 121.91, 122.35, 122.42, 122.64, 123.79, 127.59, 128.31, 128.41, 128.45, 128.54, 128.96, 129.45, 130.22, 131.17, 131.71, 131.80, 132.35, 133.79, 134.33, 136.51, 138.94, 139.34 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.88 ($\underline{C}$=N), 150.17($\underline{C}$-NH), 166.08 ($C=O_{amide}$), 192.59 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{24}BrN_3O_2Na]^+$ 620.0944, masse trouvée : 620.0931.

***5-(2-benzamidobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-3-(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (12h)*:** Rdt (70 %); P.f.: 224-226 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3282 (NH), 1729 $(C=O)_{amide}$, 1680 (C=O), 1582 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 6.92 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.2 Hz), 7.07 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.8 Hz ,J = 6.6 Hz), 7.28-7.41 (m, 7H, H_{ar}), 7.46-7.61 (m, 9H, H_{ar}), 8.06-8.09 (m, 2H, H_{ar}), 8.87 (dd, 1H, H_{ar}, J = 1.2 Hz, J = 9.0 Hz), 12.08 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 120.64, 122.13, 122.22, 122.31, 122.46, 123.77, 127.53, 128.43, 128.77, 128.95, 129.47, 129.65, 129.94, 130.24, 131.41, 131.94, 132.34, 133.62, 134.32, 134.41, 136.56, 139.12, 139.24 ($\underline{C}_{ar}$-N), 141.82 ($\underline{C}$=N), 149.00 ($\underline{C}$-NH), 166.05 ($C=O_{amide}$), 192.37 ($C=O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{23}BrClN_3O_2Na]^+$ 654.0554, masse trouvée : 654.0544.

e) Synthèse des pyrazoles portants la fonction sulfonamide 13(a-g)

Dans un erlenmeyer de 100 ml, on dissout 0,019 mole de 5-(2-aminobenzoyle)pyrazole **4(a-g)** dans 2 ml de dichlorométhane et 6 ml de la pyridine. Le mélange est placé dans un bain de glace, en maintenant la température à 0°C. 0,019 mole de chlorure de tosyle est ajouté par portions. Une fois l'addition est terminée le mélange est agité à température ambiante et suivi par CCM. La solution est neutralisée par de l'eau acidifiée (pH = 2) et extrait 3 fois avec 20 ml du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur le sulfate de sodium, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu est cristallisé dans un mélange d'éthanol/dichlorométhane.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)- 1,3,4-triphenyl-1H-pyrazole (13a)*:** Rdt (60 %); P.f.: 180-182 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3303 (NH),1622 (C=O), 1581 (C=N). **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.45 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.68 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.1 Hz), 6.99-7.07 (m, 4H, H_{ar}), 7.12-7.15 (m, 1H, H_{ar}), 7.25-7.37 (m, 9H, H_{ar}), 7.41-7.45 (m, 3H, H_{ar}), 7.52-7.55 (m, 2H, H_{ar}), 7.62 (dd, 1H, H_{ar},

J = 0.6 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.82 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 11.07 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.65 ($\underline{C}H_3$), 117.83, 121.77, 122.10, 124.08, 127.36, 127.4, 128.37, 128.41, 129.17, 129.31, 129.97, 130.20, 131.11, 131.13, 131.95, 131.97, 134.12, 135.43, 136.88, 136.93, 138.42, 139.44, 140.59 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.15 ($\underline{C}$=N), 150.03 ($\underline{C}$-NH), 192.25 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{27}N_3O_3NaS]^+$ 592.16653, masse trouvée : 592.16635.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-1,4-diphenyl-1H-pyrazole (13b)*:** Rdt (54 %); P.f.: 172-174 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3188 (NH), 1620 (C=O), 1592(C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.44 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.65 (t, 1H, H_{ar},*J* = 7.5 Hz), 6.70-7.08 (m, 4H, H_{ar}), 7.12-7.18 (m, 1H, H_{ar}), 7.25-7.47 (m, 13H, H_{ar}), 7.60 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 7.81 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.4 Hz), 11.01 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.62 ($\underline{C}H_3$), 117.82, 121.69, 122.15, 123.95, 124.02, 127.36, 127.64, 128.30, 128.45, 128.62, 129.33, 129.65, 129.84, 129.89, 130.48, 130.83, 134.05, 135.79, 136.87, 138.58, 139.32, 140.61 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.16 ($\underline{C}$=N), 148.89 ($\underline{C}$-NH), 191.31 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{26}N_3ClO_3NaS]^+$ 626.1275, masse trouvée : 626.1272.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (13c)*:** Rdt (76 %); P.f.: 188-190 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3193 (NH),1629 (C=O), 1588 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.45 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 3.73 (s, 3H, O$\underline{C}H_3$), 6.57 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.7 Hz), 6.69 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 8.4 Hz), 6.93 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.7 Hz), 7.28-7.35 (m, 9H, H_{ar}), 7.40-7.44 (m, 3H, H_{ar}), 7.53-7.56 (m, 2H, H_{ar}), 7.62 (dd, 1H, H_{ar}, *J* = 0.6 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.82 (d, 1H, H_{ar},, *J* = 1.5 Hz, *J* = 6.6 Hz), 11.07 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.62 ($\underline{C}H_3$), 55.12 (O$\underline{C}$H3), 113.83, 117.80, 121.82, 122.18, 123.22, 123.81, 123.98, 127.42, 128.07, 128.14, 128.37, 128.38, 129.27, 129.61, 129.82, 131.14, 132.10, 134.15, 134.10, 135.68, 136.95, 138.27, 139.50, 140.57 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.12 ($\underline{C}$=N), 150.03 ($\underline{C}$-NH), 158.87 ($\underline{C}$-O-CH_3), 191.69 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{36}H_{29}N_3O_4NaS]^+$ 622.1771, masse trouvée : 622.1756.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (13d)*:** Rdt (66 %); P.f.: 182-184 °C; **IR** (*v*, cm^{-1}): 3214 (NH), 1632 (C=O), 1567 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.44 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 3.74 (s, 3H, O$\underline{C}H_3$), 6.59 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 9.0 Hz), 6.71 (td, 1H, H_{ar}, *J* = 1.2 Hz, *J* = 8.1 Hz), 6.92 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 8.7 Hz), 7.26-7.35 (m, 11H, H_{ar}), 7.38-7.50 (m, 2H, H_{ar}), 7.61 (d, 1H, H_{ar}, *J* = 0.6 Hz, *J* = 8.4 Hz), 7.81 (d, 2H, H_{ar}, *J* = 1.5 Hz, *J* = 6.6 Hz), 11.04 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.61 ($\underline{C}H_3$), 55.14 (O$\underline{C}$H3), 113.96, 117.80, 121.73,

122.16, 122.89, 123.72, 123.9, 127.35, 128.22, 128.61, 129.31, 129.60, 129.82, 130.63, 131.09, 134.08, 134.11, 135.75, 136.92, 138.43, 139.39, 140.60 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.13 ($\underline{C}$=N), 148.19 ($\underline{C}$-NH), 159.01 ($\underline{C}$-O-CH_3), 191.50 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{36}H_{28}N_3ClO_4NaS]^+$ 656.1381, masse trouvée : 656.1364.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (13e)*:** Rdt (80 %); P.f.: 196-198 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3243 (NH), 1657 (C=O), 1594 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.46 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.71 (t, 1H, H_{ar}, J = 9.0 Hz), 6.92-7.01 (m, 4H, H_{ar}), 7.16-7.18 (m, 1H, H_{ar}), 7.28-7.37 (m, 10H, H_{ar}), 7.39-7.44 (m, 3H, H_{ar}), 7.49-7.52 (m, 3H, H_{ar}), 7.66 (dd, 1H, H_{ar}, J = 0.6 Hz, J = 8.4 Hz), 7.82 (dd, 2H, H_{ar}, J = 1.8 Hz, J = 6.6 Hz), 11.01 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.63 ($\underline{C}H_3$), 116.02, 117.86, 121.69, 122.61, 123.98, 127.41, 128.31, 128.39, 128.42, 128.50, 128.58, 129.35, 129.65, 129.88, 131.17, 131.64, 133.45, 136.81, 138.46, 139.28, 140.69 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.29 ($\underline{C}$=N), 150.06 ($\underline{C}$-NH), 191.40 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{26}N_3ClO_3NaS]^+$ 626.1275, masse trouvée : 626.1262.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-3,4-bis(4-chlorophenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole (13f)*:** Rdt (71 %); P.f.: 208-210 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3256 (NH), 1661 (C=O), 1597 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.46 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.71 (t, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz), 6.92-7.03 (m, 4H, H_{ar}), 7.28-7.46 (m, 13H, H_{ar}), 7.65 (d, 1H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 7.81 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 11.05 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.63 ($\underline{C}H_3$), 117.87, 121.60, 122.23, 122.52, 123.65, 123.95, 127.39, 127.97, 128.44, 128.75, 129.23, 129.36, 129.69, 129.94, 130.19, 131.13, 133.88, 134.40, 136.06, 136.79, 138.64, 139.28, 140.72 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.32 ($\underline{C}$=N), 148.90 ($\underline{C}$-NH), 191.22 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{25}N_3Cl_2O_3NaS]^+$ 660.0885, masse trouvée : 660.0869.

***5-(2-tolylsulfonamidobenzoyl)-4-(4-bromophenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (13g)*:** Rdt (74 %); P.f.: 200-202 °C; **IR** (ν, cm^{-1}): 3230 (NH), 1665 (C=O), 1590 (C=N); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 2.47 (s, 3H, $\underline{C}H_3$), 6.71 (t, 1H, H_{ar}, J = 8.2 Hz), 6.85-6.88 (m, 2H, H_{ar}), 7.10-7.14 (m, 2H, H_{ar}), 7.28-7.44 (m, 11H, H_{ar}), 7.48-7.53 (m, 3H, H_{ar}), 7.66 (d, 1H, H_{ar}, J = 7.8 Hz), 7.82 (d, 2H, H_{ar}, J = 8.4 Hz), 11.01 (s, 1H, NH, échangeables avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): 21.66 ($\underline{C}H_3$), 116.04, 117.83, 121.65, 122.25, 122.60, 123.67, 123.98, 127.42, 127.85, 128.44, 128.51, 129.20, 129.90, 130.11, 131.45, 131.51, 131.60, 133.69, 133.94, 135.65, 136.76, 138.40, 139.25, 140.67 ($\underline{C}_{ar}$-N), 144.32 ($\underline{C}$=N), 150.01 ($\underline{C}$-NH), 191.38 (C=$O_{cétone}$); HRMS : masse calculée pour $[C_{35}H_{26}N_3BrO_3NaS]^+$ 670.0770, masse trouvée : 670.0757.

f) Diffraction des rayons X sur monocristal

Les données cristallographiques ont été collectées sur un diffractomètre Bruker D8 VENTURES Super DUO équipé d'un détecteur de surface Photon 100 CMOS. La longueur d'onde utilisée est celle du molybdène (λ MoKα = 0,71073 Å). Le programme SAINT+ 6.02 a été utilisé pour l'extraction et l'intégration des intensités de diffraction [109] et le programme SADABS a été réalisé pour la correction de l'effet d'absorption [110]. Les structures ont été résolues par une méthode directe à l'aide de SHELXTL-2014/5 [111] et affinée par la technique des moindres carrés à matrice complète sur F2 à l'aide du logiciel SHELXL-2018/3 [112]. Les représentations Ortep des molécules et les dessins tridimensionnels de la structure cristalline sont obtenus par utilisation des logiciels Ortep3 et Mercury, respectivement [113,114].

Références bibliographiques

1. Moustafa, A.H.; Ahmed, D.H.; El-Wassimy, M.T.M.; Mohamed, M.F.A. Synthesis, Antimicrobial Studies, and Molecular Docking of Some New Dihydro-1,3,4-Thiadiazole and Pyrazole Derivatives Derived from Dithiocarbazates. *Synth. Commun.* **2021**, *51*, 570–584, doi:10.1080/00397911.2020.1843179.
2. Boustany-Kari, C.M.; Jackson, V.M.; Gibbons, C.P.; Swick, A.G. Leptin Potentiates the Anti-Obesity Effects of Rimonabant. *Eur. J. Pharmacol.* **2011**, *658*, 270–276, doi:10.1016/j.ejphar.2011.02.021.
3. Wyde, P.R.; Gilbert, B.E.; Ambrose, M.W. Comparison of the Anti-Respiratory Syncytial Virus Activity and Toxicity of Papaverine Hydrochloride and Pyrazofurin in Vitro and in Vivo. *Antiviral Res.* **1989**, *11*, 15–26, doi:10.1016/0166-3542(89)90017-X.
4. Tsutomu, K.; Toshitaka, N.Effects of 1,3-Diphenyl-5-(2-Dimethylaminopropionamide)-Pyrazole[Difenamizole] on a Conditioned Avoidance Response. *Neuropharmacology* **1978**, *17*, 249–256, doi:10.1016/0028-3908(78)90108-9.
5. Ma, H.-J.; Li, Y.-H.; Zhao, Q.-F.; Zhang, T.; Xie, R.-L.; Mei, X.-D.; Ning, J. Synthesis and Herbicidal Activity of Novel N-(2,2,2)-Trifluoroethylpyrazole Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4356–4360, doi:10.1021/jf9042166.
6. Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G.K.; Sharma, A.K. Pyrazole Containing Natural Products: Synthetic Preview and Biological Significance. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 735–753, doi:10.1016/J.EJMECH.2013.08.053.
7. Prabhudeva, M.G.; Bharath, S.; Kumar, A.D.; Naveen, S.; Lokanath, N.K.; Mylarappa, B.N.; Kumar, K.A. Design and Environmentally Benign Synthesis of Novel Thiophene Appended Pyrazole Analogues as Anti-Inflammatory and Radical Scavenging Agents: Crystallographic, in Silico Modeling, Docking and SAR Characterization. *Bioorg. Chem.* **2017**, *73*, 109–120, doi:10.1016/j.bioorg.2017.06.004.
8. Verma, R.; Verma, S.K.; Rakesh, K.P.; Girish, Y.R.; Ashrafizadeh, M.; Sharath Kumar, K.S.; Rangappa, K.S. Pyrazole-Based Analogs as Potential Antibacterial Agents against Methicillin-Resistance Staphylococcus Aureus (MRSA) and Its SAR Elucidation. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *212*, 113134, doi:10.1016/j.ejmech.2020.113134.
9. Zhang, X.X.; Jin, H.; Deng, Y.J.; Gao, X.H.; Li, Y.; Zhao, Y.T.; Tao, K.; Hou, T.P. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrazole Carboxamide with Diarylamine-Modified Scaffold as Potent Antifungal Agents. *Chinese Chem. Lett.* **2017**, *28*, 1731–1736, doi:10.1016/j.cclet.2017.04.021.
10. Pierce, L.T.; Cahill, M.M.; McCarthy, F.O. Synthesis of Novel 3,4-Diaryl-5-Aminopyrazoles as Potential Kinase Inhibitors. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4601–4611, doi:10.1016/j.tet.2011.04.077.
11. Li, X.; Yu, Y.; Tu, Z. Pyrazole Scaffold Synthesis, Functionalization, and Applications in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Treatment (2011-2020). *Molecules* **2021**, *26*, 1202, doi:10.3390/molecules26051202.
12. Prabhudeva, M.G.; Vivek, H.K.; Kumar, K.A. Synthesis of Novel Pyrazole Carboxamides Using Reusable Catalyst as Antimicrobial Agents and Molecular Docking Studies. *Chem. Data Collect.* **2019**, *20*, 100193, doi:10.1016/j.cdc.2019.100193.
13. Ouyang, G.; Cai, X.-J.; Chen, Z.; Song, B.; Bhadury, P.S.; Yang, S.; Jin, L.-H.; Xue, W.; Hu, D.-Y.; Zeng, S. Synthesis and Antiviral Activities of Pyrazole Derivatives

Containing an Oxime Moiety. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 10160–10167, doi:10.1021/jf072394k.

14. Alimohammady, M.; Jahangiri, M.; Kiani, F.; Tahermansouri, H. A New Modified MWCNTs with 3-Aminopyrazole as a Nanoadsorbent for Cd(II) Removal from Aqueous Solutions. *J. Environ. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 3405–3417, doi:10.1016/j.jece.2017.06.045.
15. Alimohammady, M.; Jahangiri, M.; Kiani, F.; Tahermansouri, H. Design and Evaluation of Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes by 3-Aminopyrazole for the Removal of Hg(II) and As(III) Ions from Aqueous Solution. *Res. Chem. Intermed.* **2018**, *44*, 69–92, doi:10.1007/s11164-017-3091-4.
16. Alimohammady, M.; Jahangiri, M.; Kiani, F.; Tahermansouri, H. Highly Efficient Simultaneous Adsorption of Cd(II), Hg(II) and As(III) Ions from Aqueous Solutions by Modification of Graphene Oxide with 3-Aminopyrazole: Central Composite Design Optimization. *New J. Chem.* **2017**, *41*, 8905–8919, doi:10.1039/c7nj01450c.
17. Shingare, R.M.; Patil, Y.S.; Sangshetti, J.N.; Patil, R.B.; Rajani, D.P.; Rajani, S.D.; Madje, B.R. Benzene Sulfonamide Pyrazole Thio-Oxadiazole Hybrid as Potential Antimicrobial and Antitubercular Agents. *Res. Chem. Intermed.* **2018**, *44*, 4437–4453, doi:10.1007/s11164-018-3396-y.
18. Hassan, G.S.; Abou-Seri, S.M.; Kamel, G.; Ali, M.M. Celecoxib Analogs Bearing Benzofuran Moiety as Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Design, Synthesis and Evaluation as Potential Anti-Inflammatory Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *76*, 482–493, doi:10.1016/j.ejmech.2014.02.033.
19. Giancarlo, G.M.; Venkatakrishnan, K.; Granda, B.W.; Von Moltke, L.L.; Greenblatt, D.J. Relative Contributions of CYP2C9 and 2C19 to Phenytoin 4-Hydroxylation in Vitro: Inhibition by Sulfaphenazole, Omeprazole, and Ticlopidine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *57*, 31–36, doi:10.1007/s002280100268.
20. Bennani, F.E.; Doudach, L.; Cherrah, Y.; Ramli, Y.; Karrouchi, K.; Ansar, M.; Faouzi, M.E.A. Overview of Recent Developments of Pyrazole Derivatives as an Anticancer Agent in Different Cell Line. *Bioorg. Chem.* **2020**, *97*, 103470, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103470.
21. Noe, F.F.; Fowden, L. α-Amino-β-(Pyrazolyl-N) Propionic Acid: A New Amino-Acid from Citrullus Vulgaris (Water Melon). *Nature* **1959**, *184*, BA69–BA70, doi:10.1038/184069a0b.
22. Schröter, H.-B.; Neumann, D.; Katritzky, A.R.; Swinbourne, F.J. Withasomnine. A Pyrazole Alkaloid from Withania Somnifera Dun. *Tetrahedron* **1966**, *22*, 2895–2897, doi:https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)99082-9.
23. Gutowski, G.E.; Chaney, M.O.; Jones, N.D.; Hamill, R.L.; Davis, F.A.; Miller, R.D. Pyrazomycin B: Isolation and Characterization of an α-C-Nucleoside Antibiotic Related to Pyrazomycin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1973**, *51*, 312–317, doi:10.1016/0006-291X(73)91258-8.
24. Crain, P.F.; McCloskey, J.A.; Lewis, A.F.; Schram, K.H.; Townsend, L.B. Mass Spectra of C-Nucleosides II. An Unusual Fragmentation Reaction of the Heterocyclic Moiety of Pyrazomycin and Some Closely Related Compounds. *J. Heterocycl. Chem.* **1973**, *10*, 843–847, doi:https://doi.org/10.1002/jhet.5570100529.
25. Faidallah, H.M.; Rostom, S.A.; Khan, K.A. Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazole Chalcones and Derived Bipyrazoles as Anti-Inflammatory and Antioxidant Agents. *Arch. Pharm. Res.* **2015**, *38*, 203–215, doi:10.1007/s12272-014-0392-7.
26. Karrouchi, K.; Radi, S.; Ramli, Y.; Taoufik, J.; Mabkhot, Y.N.; Al-Aizari, F.A.; Ansar, M. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review. *Molecules* **2018**, *23*, 134, doi:10.3390/molecules23010134.

27. Cox, S.K.; Roark, J.; Gassel, A.; Tobias, K. Determination of Deracoxib in Feline Plasma Samples Using High Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, *819*, 181–184, doi:10.1016/j.jchromb.2005.01.025.
28. Ji, G.; Wang, X.; Zhang, S.; Xu, Y.; Ye, Y.; Li, M.; Zhang, Y.; Wang, J. Synthesis of 3-Trifluoromethyl Pyrazoles via Trifluoromethylation/ Cyclization of α, β-Alkynic Hydrazones Using a Hypervalent Iodine Reagent. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 4361–4363, doi:10.1039/b000000x.
29. Mandha, S.R.; Siliveri, S.; Alla, M.; Bommena, V.R.; Bommineni, M.R.; Balasubramanian, S. Eco-Friendly Synthesis and Biological Evaluation of Substituted Pyrano[2,3-c]Pyrazoles. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5272–5278, doi:10.1016/j.bmcl.2012.06.055.
30. Rostom, S.A.F.; Shalaby, M.A.; El-Demellawy, M.A. Polysubstituted Pyrazoles, Part 5.1. Synthesis of New 1-(4-Chlorophenyl)-4-Hydroxy-1H-Pyrazole-3-Carboxylic Acid Hydrazide Analogs and Some Derived Ring Systems. A Novel Class of Potential Antitumor and Anti-HCV Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 959–974, doi:10.1016/j.ejmech.2003.08.003.
31. Sharma, P.K.; Chandak, N.; Kumar, P.; Sharma, C.; Aneja, K.R. Synthesis and Biological Evaluation of Some 4-Functionalized-Pyrazoles as Antimicrobial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1425–1432, doi:10.1016/j.ejmech.2011.01.060.
32. Bandgar, B.P.; Gawande, S.S.; Bodade, R.G.; Gawande, N.M.; Khobragade, C.N. Synthesis and Biological Evaluation of a Novel Series of Pyrazole Chalcones as Anti-Inflammatory, Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8168–8173, doi:10.1016/J.BMC.2009.10.035.
33. Mert, S.; Kasimoğullari, R.; Iça, T.; Çolak, F.; Altun, A.; Ok, S. Synthesis, Structure–Activity Relationships, and in Vitro Antibacterial and Antifungal Activity Evaluations of Novel Pyrazole Carboxylic and Dicarboxylic Acid Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *78*, 86–96, doi:10.1016/j.ejmech.2014.03.033.
34. Silva, V.L.M.; Elguero, J.; Silva, A.M.S. Current Progress on Antioxidants Incorporating the Pyrazole Core. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 394–429, doi:10.1016/j.ejmech.2018.07.007.
35. Sangwan, S.; Singh, R.; Gulati, S.; Rana, S. Efficient and Facile Synthesis of Pyrazoles Using Guar-Gum as Organocatalyst and Their in Vitro Herbicidal Activity. *Curr. Res. Green Sustain. Chem.* **2021**, *4*, 100146, doi:10.1016/j.crgsc.2021.100146.
36. Sribalan, R.; Banuppriya, G.; Kirubavathi, M.; Jayachitra, A.; Padmini, V. Multiple Biological Activities and Molecular Docking Studies of Newly Synthesized 3-(Pyridin-4-Yl)-1H-Pyrazole-5-Carboxamide Chalcone Hybrids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 5624–5630, doi:10.1016/j.bmcl.2016.10.075.
37. Hernández-Vázquez, E.; Salgado-Barrera, S.; Ramírez-Espinosa, J.J.; Estrada-Soto, S.; Hernández-Luis, F. Synthesis and Molecular Docking of N′-Arylidene-5-(4-Chlorophenyl)-1-(3,4-Dichlorophenyl)-4-Methyl-1H-Pyrazole-3-Carbohydrazides as Novel Hypoglycemic and Antioxidant Dual Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 2298–2306, doi:10.1016/j.bmc.2016.04.007.
38. Darwish, E.S.; Abdel Fattah, A.M.; Attaby, F.A.; Al-Shayea, O.N. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Novel Thiazole, Pyridone, Pyrazole, Chromene, Hydrazone Derivatives Bearing a Biologically Active Sulfonamide Moiety. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 1237–1254, doi:10.3390/IJMS15011237.
39. Badgujar, J.R.; More, D.H.; Meshram, J.S. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Pyrazole Based Sulfonamide Derivatives. *Indian J. Microbiol.* **2017**, *58*, 93–99, doi:10.1007/s12088-017-0689-6.

40. Ali, S.A.; Awad, S.M.; Said, A.M.; Mahgoub, S.; Taha, H.; Ahmed, N.M. Design, Synthesis, Molecular Modelling and Biological Evaluation of Novel 3-(2-Naphthyl)-1-Phenyl-1H-Pyrazole Derivatives as Potent Antioxidants and 15-Lipoxygenase Inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, *35*, 847–863, doi:10.1080/14756366.2020.1742116.
41. Knorr, L.; Blank, A. Einwirkung Substituirter Acetessigester Auf Phenylhydrazin. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1884**, *17*, 2049–2052, doi:10.1002/cber.18840170299.
42. Knorr, L. Einwirkung Substituirter Acetessigester Auf Phenylhydrazin. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1883**, *16*, 2597–2599, doi:10.1002/cber.18840170299.
43. Giornal, F.; Pazenok, S.; Rodefeld, L.; Lui, N.; Vors, J.P.; Leroux, F.R. Synthesis of Diversely Fluorinated Pyrazoles as Novel Active Agrochemical Ingredients. *J. Fluor. Chem.* **2013**, *152*, 2–11, doi:10.1016/j.jfluchem.2012.11.008.
44. Norris, T.; Colon-Cruz, R.; Ripin, D.H.B. New Hydroxy-Pyrazoline Intermediates, Subtle Regio-Selectivity and Relative Reaction Rate Variations Observed during Acid Catalyzed and Neutral Pyrazole Cyclization. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1844–1849, doi:10.1039/b500413f.
45. Gosselin, F.; O'Shea, P.D.; Webster, R.A.; Reamer, R.A.; Tillyer, R.D.; Grabowski, E.J.J. Highly Regioselective Synthesis of 1-Aryl-3,4,5-Substituted Pyrazoles. *Synlett* **2006**, *2006*, 3267–3270, doi:10.1055/s-2006-956487.
46. Bayrak, C. Synthesis and Aldose Reductase Inhibition Effects of Celecoxib Derivatives Containing Pyrazole Linked-Sulfonamide Moiety. *Bioorg. Chem.* **2022**, *128*, 106086, doi:10.1016/J.BIOORG.2022.106086.
47. Zhang, Q.; Hu, B.; Zhao, Y.; Zhao, S.; Wang, Y.; Zhang, B.; Yan, S.; Yu, F. Synthesis of N-Sulfonyl Pyrazoles Through Cyclization Reactions of Sulfonyl Hydrazines with Enaminones Promoted by p-TSA. *European J. Org. Chem.* **2020**, *2020*, 1154–1159, doi:https://doi.org/10.1002/ejoc.201901886.
48. Fustero, S.; Antonio, S.F.; Sanz-Cervera, J.F. Recent Advances in the Synthesis of Pyrazoles. A Review. *Org. Prep. Proced. Int.* **2009**, *41*, 253–290, doi:10.1080/00304940903077832.
49. Fustero, S.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P.; Simón-Fuentes, A. From 2000 to Mid-2010: A Fruitful Decade for the Synthesis of Pyrazoles. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6984–7034, doi:10.1021/cr2000459.
50. M. Muzalevskiy, V.; Yu. Rulev, A.; R. Romanov, A.; V. Kondrashov, E.; A. Ushakov, I.; A. Chertkov, V.; G. Nenajdenko, V. Selective, Metal-Free Approach to 3- or 5-CF3-Pyrazoles: Solvent Switchable Reaction of CF3-Ynones with Hydrazines. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 7200–7214, doi:10.1021/acs.joc.7b00774.
51. Moosavi-Zare, A.R.; Goudarziafshar, H.; Yadollahi, M.; Jalilian, Z. The Synthesis of Polysubstituted Amino Pyrazoles Using Nano-[Zn-4NSP]Cl2 as a New Schiff Base Complex and Catalyst. *Polycycl. Aromat. Compd.* **2022**, 1–13, doi:10.1080/10406638.2022.2025865.
52. Magini, M.; Bitla, S.; Puchakayala, M.R.; Birudaraju, S.; Dhanavath, R.; Raju Atcha, K. An Efficient (TBA)2S2O8 Catalyzed Regioselective Solvent-Free One-Pot Synthesis of Fully Substituted Pyrazoles. *Results Chem.* **2021**, *3*, 100184, doi:10.1016/J.RECHEM.2021.100184.
53. He, S.; Chen, L.; Niu, Y.N.; Wu, L.Y.; Liang, Y.M. 1,3-Dipolar Cycloaddition of Diazoacetate Compounds to Terminal Alkynes Promoted by Zn(OTf)2: An Efficient Way to the Preparation of Pyrazoles. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2443–2445, doi:10.1016/J.TETLET.2009.03.030.
54. Kumar, R.; Verma, D.; M. Mobin, S.; N. N. Namboothiri, I. One-Pot, Two-Step

Conversion of Aldehydes to Phosphonyl- and Sulfonylpyrazoles Using Bestmann–Ohira Reagent. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4070–4073, doi:10.1021/ol301695e.

55. Feng, G.; Xu, S.; Chen, R.; Chen, W.; Wang, K.K.; Wang, S. Facile Synthesis of Pyrazoles via [3+2] Cycloaddition of Diazocarbonyl Compounds and Enones. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 152622, doi:10.1016/J.TETLET.2020.152622.
56. Nair, D.; Pavashe, P.; Katiyar, S.; Namboothiri, I.N.N. Regioselective Synthesis of Pyrazole and Pyridazine Esters from Chalcones and α-Diazo-β-Ketoesters. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3146–3149, doi:10.1016/J.TETLET.2016.06.020.
57. Verma, D.; Mobin, S.; Namboothiri, I.N.N. Highly Selective Synthesis of Pyrazole and Spiropyrazoline Phosphonates via Base-Assisted Reaction of the Bestmann-Ohira Reagent with Enones. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4764–4770, doi:10.1021/jo200582z.
58. Muruganantham, R.; Namboothiri, I. Phosphonylpyrazoles from Bestmann−Ohira Reagent and Nitroalkenes: Synthesis and Dynamic NMR Studies. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2197–2205, doi:10.1021/jo902595e.
59. Muruganantham, R.; M. Mobin, S.; N. N. Namboothiri, I. Base-Mediated Reaction of the Bestmann−Ohira Reagent with Nitroalkenes for the Regioselective Synthesis of Phosphonylpyrazoles. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1125–1128, doi:10.1021/ol070107s.
60. Kumar, R.; N. N. Namboothiri, I. Regioselective Synthesis of Sulfonylpyrazoles via Base Mediated Reaction of Diazosulfones with Nitroalkenes and a Facile Entry into Withasomnine. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4016–4019, doi:10.1021/ol201534f.
61. Satheesha Rai, N.; Kalluraya, B.; Lingappa, B.; Shenoy, S.; Puranic, V.G. Convenient Access to 1,3,4-Trisubstituted Pyrazoles Carrying 5-Nitrothiophene Moiety via 1,3-Dipolar Cycloaddition of Sydnones with Acetylenic Ketones and Their Antimicrobial Evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1715–1720, doi:10.1016/J.EJMECH.2007.08.002.
62. Delaunay, T.; Es-Sayed, M.; Vors, J.-P.; Monteiro, N.; Balme, G. Facile Access to 3,5-Dihalogenated Pyrazoles by Sydnone Cycloaddition and Their Versatile Functionalization by Pd-Catalyzed Cross-Coupling Processes. *European J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 3837–3848, doi:https://doi.org/10.1002/ejoc.201100119.
63. Chen, F.; Liu, F.-M.; Shi, H.; Chen, S.-L. A Facile Access to 1,3,4-Trisubstituted Pyrazoles via 1,3-Dipolar Cycloaddition of 3-Arylsydnones with α,β-Unsaturated Ketones. *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.* **2013**, *144*, 879–884, doi:10.1007/s00706-012-0901-7.
64. Oh, L.M. Synthesis of Celecoxib via 1 , 3-Dipolar Cycloaddition. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7943–7946, doi:10.1016/j.tetlet.2006.08.138.
65. Wang, K.-H.; Liu, H.; Liu, X.; Bian, C.; Wang, J.; Su, Y.; Huang, D.; Hu, Y. Regioselective Synthesis of 3-Trifluoromethyl 4-Subtituted Pyrazoles by [3+2] Cycloaddition of Trifluoroacetonitrile Imines and Nitroalkenes. *Asian J. Org. Chem.* **2022**, *11*, e202200103, doi:https://doi.org/10.1002/ajoc.202200103.
66. Ren, Y.; Ma, R.; Feng, Y.; Wang, K.-H.; Wang, J.; Huang, D.; Lv, X.; Hu, Y. Synthesis of Difluoromethyl Pyrazolines and Pyrazoles by [3+2] Cycloaddition Reaction of Difluoroacetohydrazonoyl Bromides with Electron-Deficient Olefins. *Asian J. Org. Chem. n/a*, e202200438, doi:https://doi.org/10.1002/ajoc.202200438.
67. Wang, Y.; Xiong, C.; Zhong, J.; Zhou, Q. Synthesis of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazole-4-Carboxylates through 1,3-Dipolar Cycloaddition of Nitrilimines with Allenoates. *Tetrahedron* **2022**, *115*, 132790, doi:10.1016/J.TET.2022.132790.
68. Alizadeh, A.; Moafi, L.; Zhu, L. Highly Regioselective Synthesis of Pyrazole Derivatives Using a 1,3-Dipolar Cycloaddition Approach. *Synlett* **2016**, *27*, 595–598, doi:10.1055/s-0035-1560905.
69. Utecht, G.; Fruziński, A.; Jasiński, M. Polysubstituted 3-Trifluoromethylpyrazoles:

Regioselective (3 + 2)-Cycloaddition of Trifluoroacetonitrile Imines with Enol Ethers and Functional Group Transformations. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 1252–1257, doi:10.1039/c7ob03126b.

70. Daou, B.; Soufiaoui, M.; Carrié, R. Régiospécificité de La Cycloaddition Des Diarylnitrilimines Sur Quelques Dérivés Indoliques. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 1485–1488, doi:10.1002/jhet.5570260544.
71. Laude, Bernard; Mohamed soufiaoui, J.A. Cycloadditions Dipolaires-1,3 Addition Des Diarylnitrilimines Au N-Méthyl Indole. Etude Expérimentale et Essai d'interprétation. *J. Heterocycl. Chem.* **1977**, *14*, 1183–1190, doi:10.1002/jhet.5570140711.
72. Daou, B.; Soufiaoui, M. Nouvelle Voie de Synthése d'arylpyrazolo-[4,3-c]Quinoleines via La Cycloaddition Dipolaire-1.3. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3351 10 3361.
73. Deepthi, A.; Acharjee, N.; Sruthi, S.L.; Meenakshy, C.B. An Overview of Nitrile Imine Based [3+2] Cycloadditions over Half a Decade. *Tetrahedron* **2022**, *116*, 132812, doi:10.1016/j.tet.2022.132812.
74. Dadiboyena, S. Cycloadditions and Condensations as Essential Tools in Spiropyrazoline Synthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 347–377, doi:10.1016/j.ejmech.2013.01.059.
75. M'Sadek, M.; Rammah, M.; Schmitt, G.; Vebrel, J. Reaction De Diverses 2-Arylidene-Benzofuran-3-Ones Avec La Diphenylnitrilimine. Une Nouvelle Synthese D'Ortho-Hydroxybenzoylpyrazoles. *Bull. des Sociétés Chim. Belges* **1992**, *101*, 323–327, doi:10.1002/bscb.19921010413.
76. Cao, G.; Liu, X.; Wang, L.; Li, Y.; Teng, D. Cascade 1,3-Dipolar Cycloaddition/SO2 Extrusion Approach for the Rapid Synthesis of Tetraaryl-Substituted Pyrazoles with Aggregation Induced Emission Characteristics. *Tetrahedron* **2020**, *76*, 131568, doi:10.1016/J.TET.2020.131568.
77. Dadiboyena, S.; Valente, E.J.; Ashton T. Hamme II A Novel Synthesis of 1, 3, 5-Trisubstituted Pyrazoles through a Spiro-Pyrazoline Intermediate via a Tandem 1, 3-Dipolar Cycloaddition/Elimination. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 291–294, doi:10.1016/j.tetlet.2008.10.145.
78. Dawood, K.M. Regio- and Stereoselective Synthesis of Bis-Spiropyrazoline-5,3'-Chroman(Thiochroman)-4-One Derivatives via Bis-Nitrilimines. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5229–5233, doi:10.1016/j.tet.2005.03.083.
79. M'Sadek, M.; Rammah, M.; Schmitt, G.; Vebrel, J. Reaction de Diverses 2-Arylidene-Benzofuran-3-Ones Avec La Diphenylnitrilimine. Une Nouvelle Synthese d'ortho-Hydroxybenzoylpyrazoles. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, *101*, 323–327, doi:10.1002/bscb.19921010413.
80. Dalloul, H.M. Heterocyclic Synthesis Using Nitrilimines: Part 16. Synthesis of Some New Pyrazole and Spiropyrazoline Derivatives. *Chinese J. Chem.* **2011**, *29*, 751–756, doi:10.1002/cjoc.201190152.
81. Boughaleb, A.; Akhazzane, M.; Al Houari, G.; Daoudi, M.; Garrigues, B.; Kerbal, A.; El Yazidi, M. Cycloaddition Des Arylnitriloxydes Sur Des Dérivés de La 2-Benzylidènebenzo[b]Thiophèn-3(2H)- One (Thioaurones). *J. la Société Chim. Tunisie* **2011**, *13*, 117–122.
82. Chalkha, M.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Nicolas, Y.; Al Houari, G.; El Yazidi, M. Design, Synthesis and Characterization of Functionalized Pyrazole Derivatives Bearing Amide and Sulfonamide Moieties from Aza-Aurones. *J. Chem. Sci.* **2020**, *132*, 86, doi:10.1007/s12039-020-01792-3.
83. Dalloul, H.M. Heterocyclic Synthesis Using Nitrilimines : Part 14 . Synthesis of New Pyrazole Derivatives. *Turkish J. Chem.* **2010**, *34*, 529–535, doi:10.3906/kim-0910-30.
84. Chalkha, M.; Ameziane el Hassani, A.; Nakkabi, A.; Tüzün, B.; Bakhouch, M.;

Benjelloun, A.T.; Sfaira, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; Yazidi, M. El Crystal Structure, Hirshfeld Surface and DFT Computations, along with Molecular Docking Investigations of a New Pyrazole as a Tyrosine Kinase Inhibitor. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1273*, 134255, doi:10.1016/J.MOLSTRUC.2022.134255.

85. Chalkha, M.; Akhazzane, M.; Moussaid, F.Z.; Daoui, O.; Nakkabi, A.; Bakhouch, M.; Chtita, S.; Elkhattabi, S.; Iraqi Housseini, A.; El Yazidi, M. Design, Synthesis, Characterization, in Vitro Screening, Molecular Docking, 3D-QSAR, and ADME-Tox Investigations of Novel Pyrazole Derivatives as Antimicrobial Agents. *New J. Chem.* **2022**, *46*, 2747–2760, doi:10.1039/d1nj05621b.
86. Chalkha, M.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Nicolas, Y.; Al Houari, G.; El Yazidi, M. Design, Synthesis and Characterization of Functionalized Pyrazole Derivatives Bearing Amide and Sulfonamide Moieties from Aza-Aurones. *J. Chem. Sci.* **2020**, *132*, 86, doi:10.1007/s12039-020-01792-3.
87. Chalkha, M.; Moussaoui, A. El; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Bouzina, A.; Almalki, F.A.; Saghrouchni, H.; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; et al. Crystallographic Study, Biological Evaluation and DFT/POM/Docking Analyses of Pyrazole Linked Amide Conjugates: Identification of Antimicrobial and Antitumor Pharmacophore Sites. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1252*, 131818, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131818.
88. Azab, M.E.; Youssef, M.M.; El-bordany, E.A. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel Heterocyclic Compounds Containing a Sulfonamido Moiety. *Molecules* **2013**, *18*, 832–844, doi:10.3390/molecules18010832.
89. Gulçin, İ.; Taslimi, P. Sulfonamide Inhibitors: A Patent Review 2013- Present. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2018**, *28*, 541–549, doi:10.1080/13543776.2018.1487400.
90. Keche, A.P.; Hatnapure, G.D.; Tale, R.H.; Rodge, A.H.; Kamble, V.M. Synthesis, Anti-Inflammatory and Antimicrobial Evaluation of Novel 1-Acetyl-3,5-Diaryl-4,5-Dihydro (1H) Pyrazole Derivatives Bearing Urea, Thiourea and Sulfonamide Moieties. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 6611–6615, doi:10.1016/j.bmcl.2012.08.118.
91. Gedawy, E.M.; Kassab, A.E.; El Kerdawy, A.M. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrazole Sulfonamide Derivatives as Dual COX-2/5-LOX Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *189*, 112066, doi:10.1016/j.ejmech.2020.112066.
92. Yamali, C.; Gul, H.I.; Ece, A.; Bua, S.; Angeli, A.; Sakagami, H.; Sahin, E.; Supuran, C.T. Synthesis, Biological Evaluation and in Silico Modelling Studies of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoles Carrying Benzenesulfonamide as Potential Anticancer Agents and Selective Cancer-Associated HCA IX Isoenzyme Inhibitors. *Bioorg. Chem.* **2019**, *92*, 103222, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103222.
93. Yamali, C.; Sakagami, H.; Uesawa, Y.; Kurosaki, K.; Satoh, K.; Masuda, Y.; Yokose, S.; Ece, A.; Bua, S.; Angeli, A.; et al. Comprehensive Study on Potent and Selective Carbonic Anhydrase Inhibitors: Synthesis, Bioactivities and Molecular Modelling Studies of 4-(3-(2-Arylidenehydrazine-1-Carbonyl)-5-(Thiophen-2-Yl)-1H-Pyrazole-1-Yl) Benzenesulfonamides. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *217*, 113351, doi:10.1016/j.ejmech.2021.113351.
94. Chalkha, M.; Nakkabi, A.; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Moussaoui, A. El; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; Almalki, F.A.; Laaroussi, H.; et al. Crystallographic Study, Biological Assessment and POM/Docking Studies of Pyrazoles-Sulfonamide Hybrids (PSH): Identification of a Combined Antibacterial/Antiviral Pharmacophore Sites Leading to in-Silico Screening the Anti-Covid-19 Activity. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1267*, 133605, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133605.
95. Bloom, D.E.; Cadarette, D. Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century:

Strengthening the Global Response. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 549, doi:10.3389/fimmu.2019.00549.

96. Wisplinghoff, H.; Bischoff, T.; Tallent, S.M.; Seifert, H.; Wenzel, R.P.; Edmond, M.B. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *39*, 309–17, doi:10.1097/01.idc.0000144912.27311.19.
97. Lilienfeld-toal, M. Von; Wagener, J.; Einsele, H.; Cornely, O.A.; Kurzai, O. Invasive Fungal Infection New Treatments to Meet New Challenges. *Dtsch. Arztebl. Int.* **2019**, *116*, 271–78, doi:10.3238/arztebl.2019.0271.
98. Morales, D.K.; Hogan, D.A. Candida Albicans Interactions with Bacteria in the Context of Human Health and Disease. *PLoS Pathog.* **2010**, *6*, e1000886, doi:10.1371/journal.ppat.1000886.
99. Vouga, M.; Greub, G. Emerging Bacterial Pathogens: The Past and Beyond. *Clin. Microbiol. Infect.* **2016**, *22*, 12–21, doi:10.1016/j.cmi.2015.10.010.
100. Gu, W.; Yu, Q.; Yu, C.; Sun, S. In Vivo Activity of Fluconazole/Tetracycline Combinations in Galleria Mellonella with Resistant Candida Albicans Infection. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2018**, *13*, 74–80, doi:10.1016/j.jgar.2017.11.011.
101. Dadgostar, P. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect. Drug Resist.* **2019**, *12*, 3903–3910, doi:10.2147/IDR.S234610.
102. Vivas, R.; Barbosa, A.A.T.; Dolabela, S.S.; Jain, S. Multidrug-Resistant Bacteria and Alternative Methods to Control Them: An Overview. *Microb. Drug Resist.* **2019**, *25*, 890–908, doi:10.1089/mdr.2018.0319.
103. Arendrup, M.C.; Patterson, T.F. Multidrug-Resistant Candida : Epidemiology , Molecular Mechanisms , and Treatment. *J. Infect. Dis.* **2017**, *216*, 445–451, doi:10.1093/infdis/jix131.
104. Zhang, N.; Ma, S. Recent Development of Membrane-Active Molecules as Antibacterial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *184*, 111743, doi:10.1016/j.ejmech.2019.111743.
105. Sivakumar, C.; Balachandran, V.; Narayana, B.; Salian, V. V.; Revathi, B.; Shanmugapriya, N.; Vanasundari, K. Molecular Spectroscopic Assembly of 3-(4-Chlorophenyl)-5-[4-(Propane-2-Yl) Phenyl] 4, 5-Dihydro-1H Pyrazole-1-Carbothioamide, Antimicrobial Potential and Molecular Docking Analysis. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1210*, 128005, doi:10.1016/j.molstruc.2020.128005.
106. Rangaswamy, J.; Kumar, H.V.; Harini, S.T.; Naik, N. Functionalized 3-(Benzofuran-2-Yl)-5-(4-Methoxyphenyl)-4,5-Dihydro-1H-Pyrazole Scaffolds: A New Class of Antimicrobials and Antioxidants. *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, S2685–S2696, doi:10.1016/j.arabjc.2013.10.012.
107. Puthran, D.; Poojary, B.; Purushotham, N.; Harikrishna, N.; Nayak, S.G.; Kamat, V. Synthesis of Novel Schiff Bases Using 2-Amino-5-(3-Fluoro-4-Methoxyphenyl)Thiophene-3-Carbonitrile and 1,3-Disubstituted Pyrazole-4-Carboxaldehydes Derivatives and Their Antimicrobial Activity. *Heliyon* **2019**, *5*, e02233, doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02233.
108. Hamada, N.M.M.; Abdo, N.Y.M. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Screening and Free-Radical Scavenging Activity of Some Novel Substituted Pyrazoles. *Molecules* **2015**, *20*, 10468–10486, doi:10.3390/molecules200610468.
109. Bruker APEX3 (Version 5.054); SAINT+ (Version 6.36A); SADABS. Bruker AXS Inc.; Madison; Wisconsin; USA 2016.
110. Krause, L.; Herbst-Irmer, R.; Sheldrick, G.M.; Stalke, D. Comparison of Silver and Molybdenum Microfocus X-Ray Sources for Single-Crystal Structure Determination. *J. Appl. Crystallogr.* **2015**, *48*, 3–10, doi:10.1107/S1600576714022985.

111. Sheldrick, G.M. SHELXT - Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2015**, *71*, 3–8, doi:10.1107/S2053273314026370.
112. Sheldrick, G.M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8, doi:10.1107/S2053229614024218.
113. Farrugia, L.J. WinGX and ORTEP for Windows: An Update. *J. Appl. Crystallogr.* **2012**, *45*, 849–854, doi:10.1107/S0021889812029111.
114. Macrae, C.F.; Bruno, I.J.; Chisholm, J.A.; Edgington, P.R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodriguez-Monge, L.; Taylor, R.; Van De Streek, J.; Wood, P.A. Mercury CSD 2.0 - New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures. *J. Appl. Crystallogr.* **2008**, *41*, 466–470, doi:10.1107/S0021889807067908.

Chapitre IV : Synthèse et propriétés biologiques des molécules hybrides

I. Introduction

Le traitement pathologique à l'aide d'un seul médicament est souvent accompagné dans le cas de long traitement de développement d'une résistance au médicament, apparition de formes d'allergie et de faibles résultats thérapeutiques [1–3]. Pour surmonter ce problème, certaines approches thérapeutiques ont été conçues et développées au fil des ans. Parmi celles-ci, la thérapie combinée est apparue comme une approche prometteuse dans le traitement de plusieurs pathologies [4]. Ce procédé a montré des avantages préférentiels en comparaison avec le traitement par un seul principe actif. Cependant, il présente également plusieurs inconvénients dus aux effets secondaires de plus en plus importants qui se développent après l'administration de deux ou plusieurs médicaments [5]. Cela a incité les chercheurs à concevoir une nouvelle stratégie qui permettra de créer des biomolécules à haute efficacité et à faible toxicité [6–8]. Ce concept repose sur l'association de deux ou plusieurs molécules ayant des activités biologiques différentes en vue de produire de nouvelles structures hybrides possédant à la fois les propriétés de chacune des molécules composantes [6]. Un principe actif hybride qui agit sur plusieurs cibles est nettement plus attractif du point de vue efficacité thérapeutique et rentabilité économique [9–15]. De plus, les médicaments hybrides pourraient également offrir plusieurs avantages en comparaison avec la thérapie combinée traditionnelle, notamment une toxicité plus faible et moins d'effets secondaires [16].

Ces dernières années, l'hybridation moléculaire est devenue une approche attrayante et constitue une voie prometteuse pour la conception et le développement de nouveaux composés biologiquement actifs [17]. Un nombre important de composés hétérocycliques sont connus comme principes actifs dans des médicaments utilisés comme agent unique ou en association [12,14,15,18,19]. Plusieurs laboratoires de recherche se sont intéressés à la synthèse et au développement de molécules hybrides à base des hétérocycles dans l'enquête de nouveaux candidats-médicaments capables de remédier à diverses infections [20,21]. Divers hybrides à base de motifs hétérocycliques contenant les atomes d'azote et/ou d'oxygène ont été récemment étudiés en tant que conjugués présentant des propriétés thérapeutiques remarquables [6]. Parmi eux, des analogues hybrides dont le squelette est formé de pharmacophore pyrazole et d'autres azoles biologiquement actifs ont montré des applications pharmaceutiques potentielles grâce à l'effet synergique des deux pharmacophores [22–24]. Cependant, les conjugués à base de pyrazole liés à l'isoxazoline en tant qu'agent antimicrobien sont peu étudiés dans le contexte de l'approche hybride. L'association de ces deux pharmacophores dans une seule structure hybride peut donner lieu à des nouvelles

molécules dotées d'une grande stabilité chimique et susceptibles d'interagir avec des cibles biologiques.

Les isoxazolines ont reçu une attention particulière dans le domaine de la chimie organique [25]. Le motif isoxazoline est un pharmacophore très important qui entre dans la conception de plusieurs composés synthétiques et naturels utilisés dans divers domaines, notamment pharmaceutique, biologique, agricole et médicinal [25–28] (*figure IV.1*). Les dérivés de l'isoxazoline continuent d'attirer avec beaucoup d'intérêt l'attention des chercheurs et constituent une source de motivation dans l'enquête de nouveaux agents thérapeutiques [29,30]. Le grand nombre de recherches menées ont prouvé l'importance pharmacologique de ces motifs hétérocycliques [25–30].

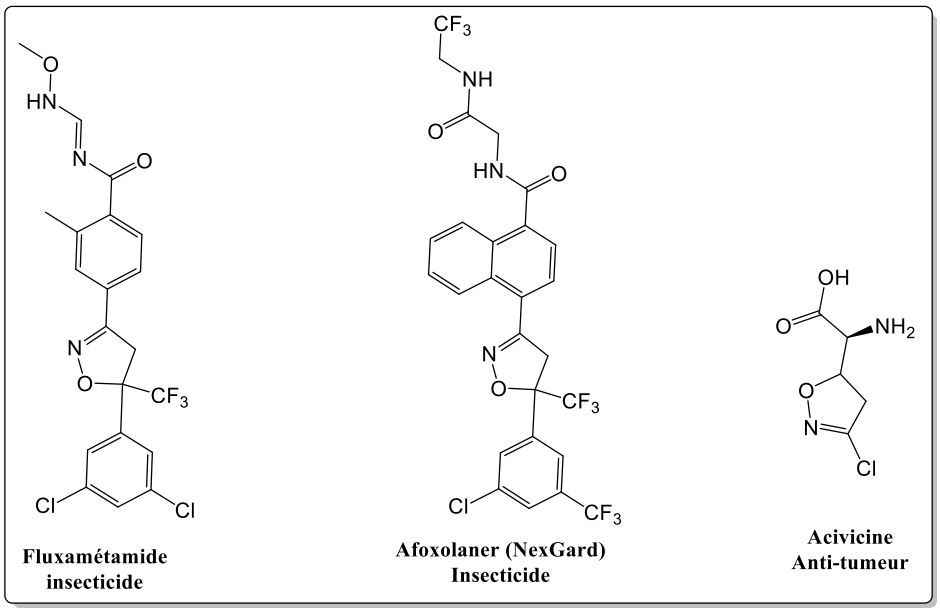


Figure IV.1. Exemples d'agents thérapeutiques renfermant le noyau isoxazoline

Compte tenu des données de la littérature sur l'importance de la stratégie d'hybridation moléculaire et de nos travaux antérieurs sur les systèmes hétérocycliques à base de pyrazole dans le cadre de la recherche de nouveaux agents antimicrobiens puissants [31–34], il nous a paru très intéressant de synthétiser de nouveaux systèmes hétérocycliques hybrides incorporant des pharmacophores azoles pour explorer leur activité antimicrobienne. Dans ce chapitre, nous nous sommes focalisés sur la synthèse, la caractérisation et les applications biologiques de nouvelles molécules hybrides formés de pyrazole conjugué aux noyaux isoxazoline et pyrazoline. Nous montrerons dans ce qui suit à l'aide des exemples décrits dans la littérature, l'importance de l'approche hybridation moléculaire sur le plan synthèse et applications spécifiques en domaine thérapeutique.

II. Rappel bibliographique sur les molécules hybrides

II.1. Concept molécule hybride

Les composés hybrides peuvent être définis comme des entités chimiques avec deux ou plusieurs fragments structurels dotés de différentes fonctions biologiques. Ils combinent ainsi deux ou plusieurs pharmacophores dans une seule molécule [8,35]. En terme simple, il s'agit d'une approche rationnelle fondée sur la liaison covalente de deux molécules, chacune avec sa propre activité, pour produire une seule molécule hybride à double activité. Ce concept, également connu sous le nom de « biothérapie covalente » ou « médicaments doubles », peut être considéré comme une extension du concept d'une combinaison à dose fixe de deux médicaments ou plus dans un seul comprimé. L'hybridation des molécules est un outil puissant qui a été utilisé par plusieurs groupes de recherche pour développer des composés susceptibles de traiter un certain nombre de maladies telles que le cancer [15], la tuberculose [14] et malaria [36], etc. Ces hybrides à double action ont le potentiel d'augmenter l'efficacité biopharmaceutique, de réduire le coût, de réduire le risque d' interactions entre médicaments et de surmonter le développement rapide des problèmes de résistance [6].

Les hybrides peuvent être classés en quelques catégories (*figure IV.2a*) [8,35]: les hybrides conjugués, où les molécules sont constituées de divers pharmacophores qui sont liés par un lien covalent (stable ou métabolisé pour donner des pharmacophores libres), hybrides fusionnés, dans lesquels les liens utilisés sont plus courts de telle sorte que les pharmacophores se touchent littéralement et les hybrides combinés, dans lesquels les structures moléculaires sont plus simples et plus petites en fusionnant les points communs des molécules parentales. Les molécules hybrides à activité duale s'inscrit dans le contexte du développement de la polypharmacologie [7,8,36,37]. Il existe trois modes d'interaction possibles pour un principe actif hybride. Des molécules hybrides dont les deux entités constitutives sont capables d'agir sur la même cible (cas (i) de la *figure IV.2b*), ou bien chacun des deux pharmacophores est capable d'agir sur deux cibles indépendantes (cas (ii) de la *Figure 1b*) ou le dernier cas, celui d'une molécule hybride dont les deux entités agissent sur deux sites distincts (indépendants ou non) d'une même macromolécule biologique (cas (iii) de la *figure IV.2b*).

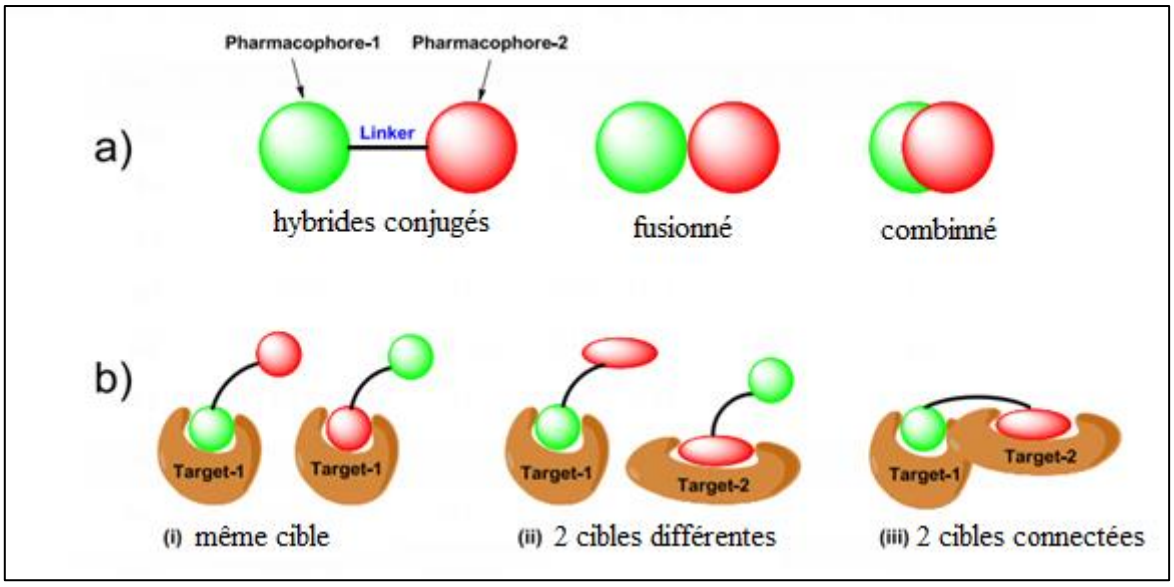


Figure IV.2. a) Catégories d'hybrides. b) représentation schématique de trois modes d'interaction possibles pour les hybrides

II.2. Les molécules hybrides à base de pyrazole

La synthèse de molécules hybrides et leur évaluation en tant qu'agents pharmacologiques et en tant que médicaments puissants ont connu une progression constante au cours des deux dernières décennies [6,9–15]. La construction de molécules hétérocycliques hybrides avec deux ou plusieurs unités hétérocycliques dans un seul squelette à partir de précurseurs de départ simples et facilement accessibles est l'un des objectifs principaux dans ce contexte. Dans ce cadre, un nombre impressionnant d'investigations qui impliquent le couplage des entités hétérocycliques entre elles tels que les unités pyrazole, isoxazole, pyrazoline, triazole et d'autres ont été réalisées et ont montré des propriétés pharmacologiques remarquables [12,14,15,18,19].

En raison des larges domaines d'applicabilité des dérivés du pyrazole qui présentent un grand intérêt, diverses molécules hybrides à base de cette famille d'hétérocycles ont été synthétisées et étudiées en tant que candidats prometteurs. Certaines investigations les plus courantes seront discutées brièvement ci-après :

Encouragés par les activités biologiques des noyaux pyrazole et triazole, Ashok et *al*. [38] ont préparé une série de molécules hybrides comportant ces deux motifs pour améliorer l'activité thérapeutique. L'approche de synthèse adoptée pour obtenir les composés cibles est décrite dans le *schéma IV.1*. Elle est composée de trois étapes : la première est la réaction de substitution nucléophile de la 2,4-dihydroxyacétophénone avec le bromure de propargyle qui conduit aux intermédiaires mono-propargylés. La condensation de Claisen Schmidt de l'hydroxyacétophénone o-propargylé en position 4 avec les pyrazole-4-carboxaldéhydes

substitués conduit dans la deuxième étape aux pyrazoles portant un alcyne terminal. Ces derniers par une réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec des azides aromatiques donnent des composés hybrides. Les auteurs ont évalué l'activité antimicrobienne des hybrides préparés. Les résultats montrent qu'elles sont dotées d'un effet inhibiteur prometteur sur des souches bactériennes et fongiques.

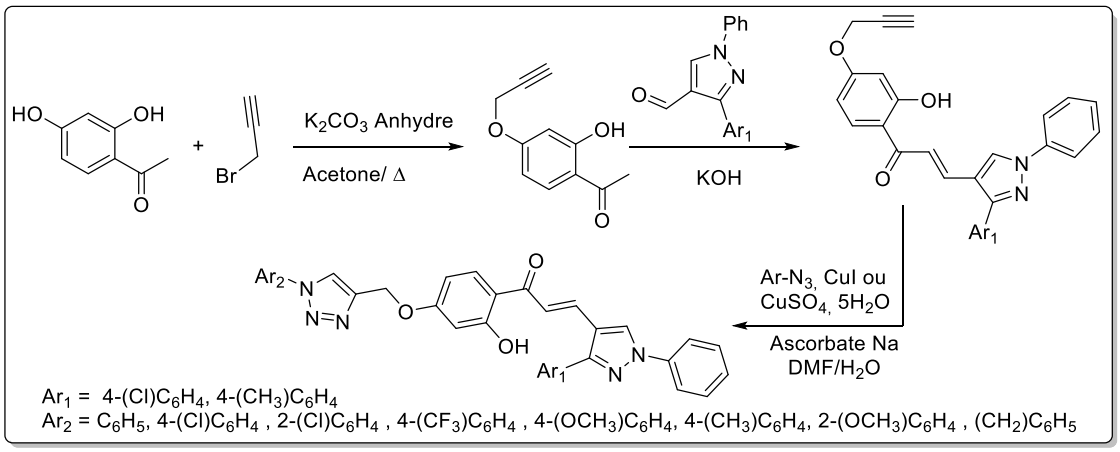


Schéma IV.1

Dans le même contexte, Madhavilatha et *al*. [39] ont synthétisé de nouveaux hybrides à base de pyrazole liés aux noyaux isoxazole et triazole en utilisant les réactions de la *N*-alkylation et de la cycloaddition dipolaire-1,3. Les composés hybrides synthétisés ont été évalués contre quatre lignées cellulaires tumorales humaines : MCF7, HEPG2, IMR32 et HELA. Les résultats obtenus montrent que certains d'entre eux possèdent une cytotoxicité remarquable contre les lignées cellulaires tumorales testées (*schéma IV.2*).

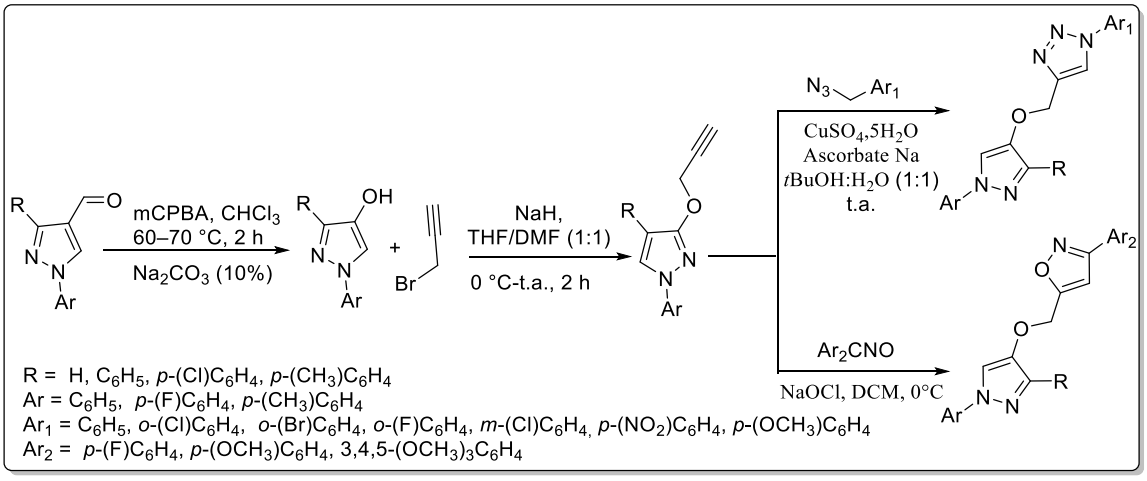


Schéma IV.2

Une autre série d'hybrides pyrazolo-triazole a été conçue et synthétisée en combinant les pharmacophores pyrazole et triazole selon la procédure de synthèse décrite dans le *schéma IV.3* [15]. Les composés synthétisés ont été testés pour leur activité anticancéreuse contre

certaines lignées cellulaires tumorales, à savoir les cellules HT-29 (colon), PC-3 (prostate) et A549 (poumon). Les résultats ont révélé que la plupart des composés testés ont montré une inhibition modérée à puissante de la croissance cellulaire sur différentes cellules cancéreuses. Quelques composés ont montré une cytotoxicité prometteuse contre ces lignées cellulaires avec des valeurs de l'IC_{50} dans la gamme de 0,86-3,72 μM.

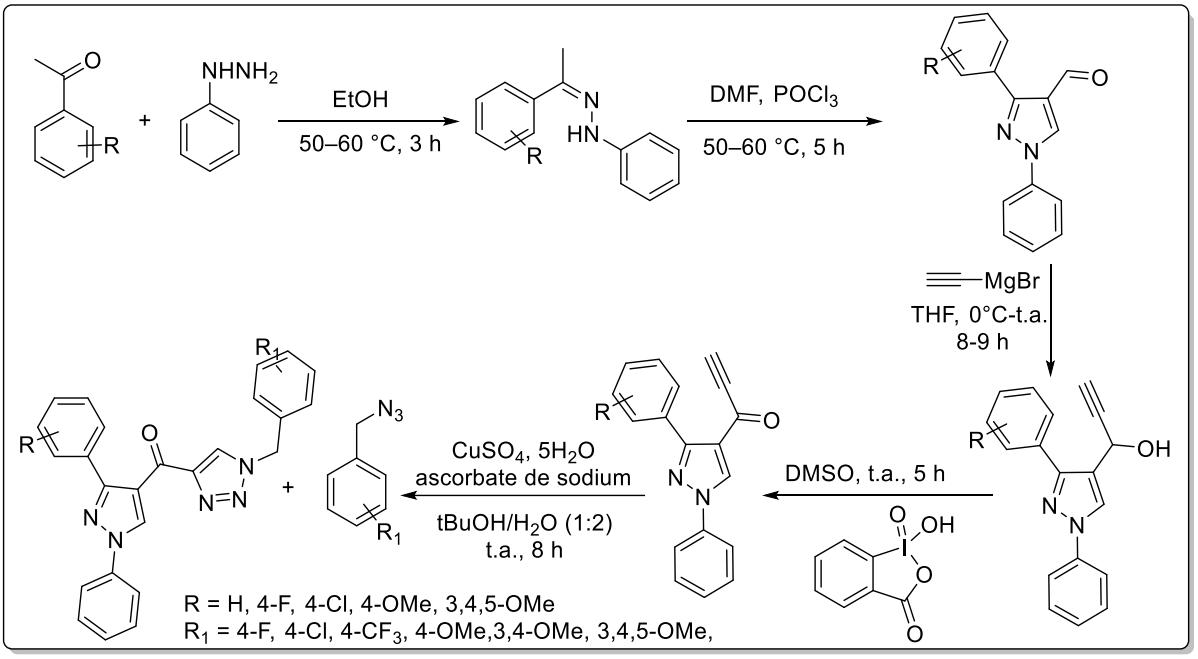


Schéma IV.3

Nayak et *al*. [12] ont rapporté la synthèse d'une série de nouveaux composés hybrides à base de pharmacophores pyrazole et triazole en tant que agents antituberculeux. La synthèse de ces composés hybrides a été réalisée en diverses étapes, comme présentées dans le *schéma IV.4*. Le protocole implique la condensation de Claisen des acétophénones substituées avec de l'oxalate de diéthyle suivie par la cyclisation classique des dicétoesters obtenus avec les arylhydrazines pour aboutir aux pyrazoles portants une fonction ester. Les pyrazoles propargylés ont été préparés par la réduction de la fonction ester en alcool suivie par la réaction d'alkylation avec le bromure de propargyle. Dans la dernière étape, les pyrazoles propargylés ont ensuite été soumis à une réaction de cycloaddition azide-alcyne catalysée par le cuivre (I) pour donner des hybrides pyrazole-triazole. Les composés synthétisés ont montré une activité antituberculeuse significative contre la souche *Mycobacterium tuberculosis* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) ≤ 6,25 μg/ml. De même, les composés testés se sont avérés non toxiques contre les cellules normales avec un indice de sélectivité élevé (>37). De plus, les composés hybrides ont également été évalués pour leur activité

antibactérienne *in vitro* et ont montré une activité inhibitrice prometteuse contre les souches testées.

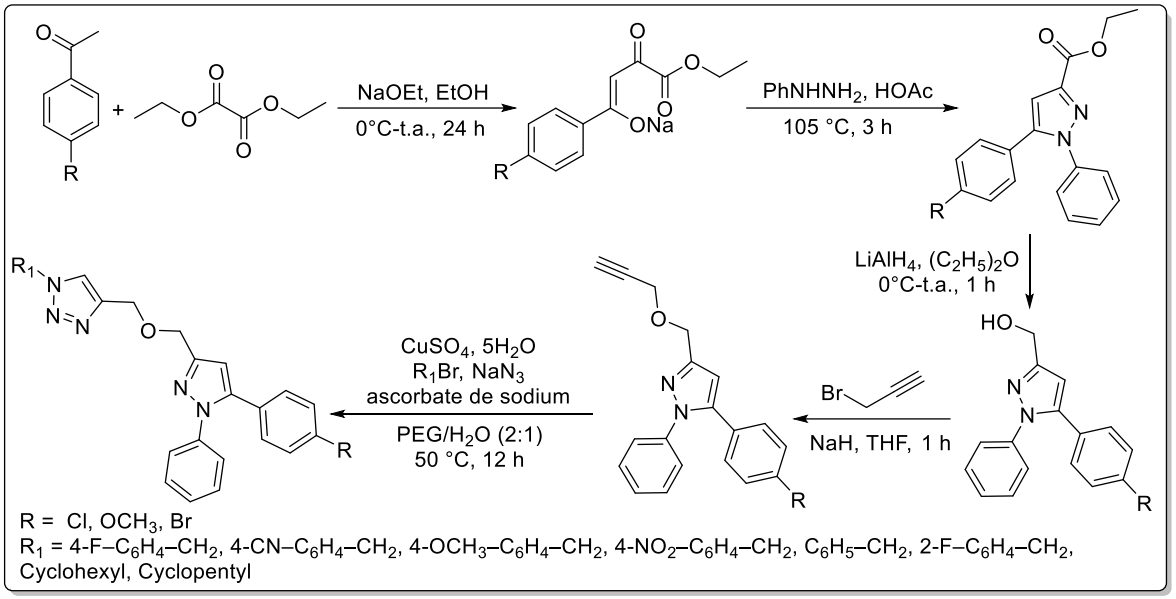


Schéma IV.4

Récemment, une nouvelle méthodologie simple pour la synthèse de nouveaux hybrides pyrazole-isoxazoline bioactifs a été développée par Sankar et *al*. [40]. La procédure utilisée pour la synthèse de ces nouveaux matériaux hybrides est illustrée dans le *schéma.IV.5*. Cette méthode basée généralement sur l'utilisation des réactions de condensation et de cycloaddition. Les études biologiques réalisées sur les molécules hybrides issues de cette association montrent que ces dernières possèdent des bonnes activités antibactérienne et antifongique.

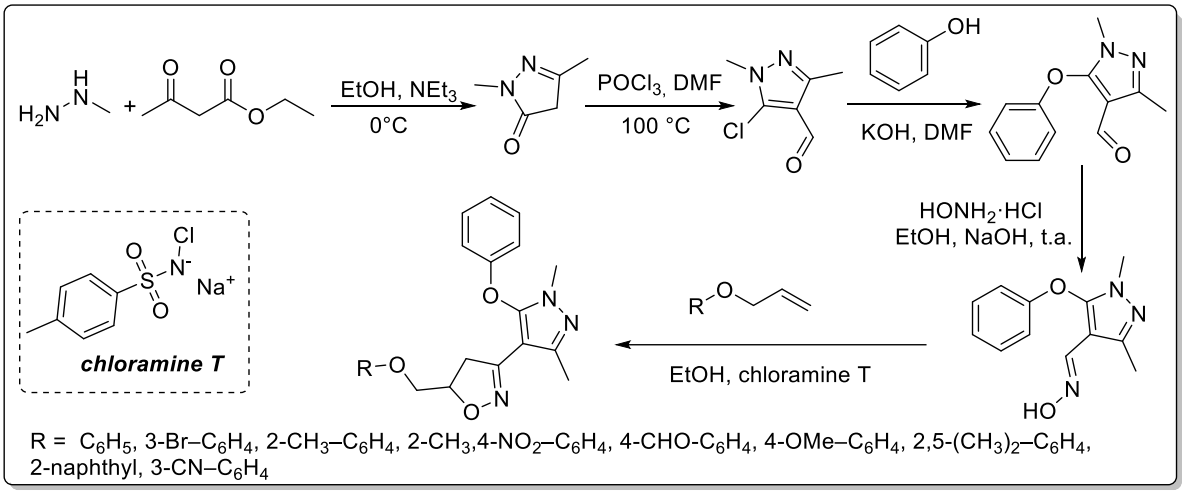


Schéma IV.5

Dans une autre étude, Marella et *al*. [41] ont rapporté la synthèse de nouveaux matériaux hybrides par l'association de noyau pyrazolique avec un motif pyrazolinique et l'évaluation

de leur activité antipaludique (*schéma IV.6*). Les étapes de la synthèse comprennent la formation de pyrazoles portants un aldéhyde par la réaction de Vilsmeier-Haack, suivie d'une condensation de Claisen-Schmidt avec des acétophénones. Les chalcones résultantes, après traitement avec du thiosemicarbazide ont fourni les hybrides pyrazole-pyrazoline avec des bons rendements. Les hybrides synthétisés ont montré une activité antipaludique *in vitro* significative contre la souche de *P. falciparum* dont certains composés actifs ont une valeur de l'IC_{50} comprise entre 1,13 et 4,20 µM.

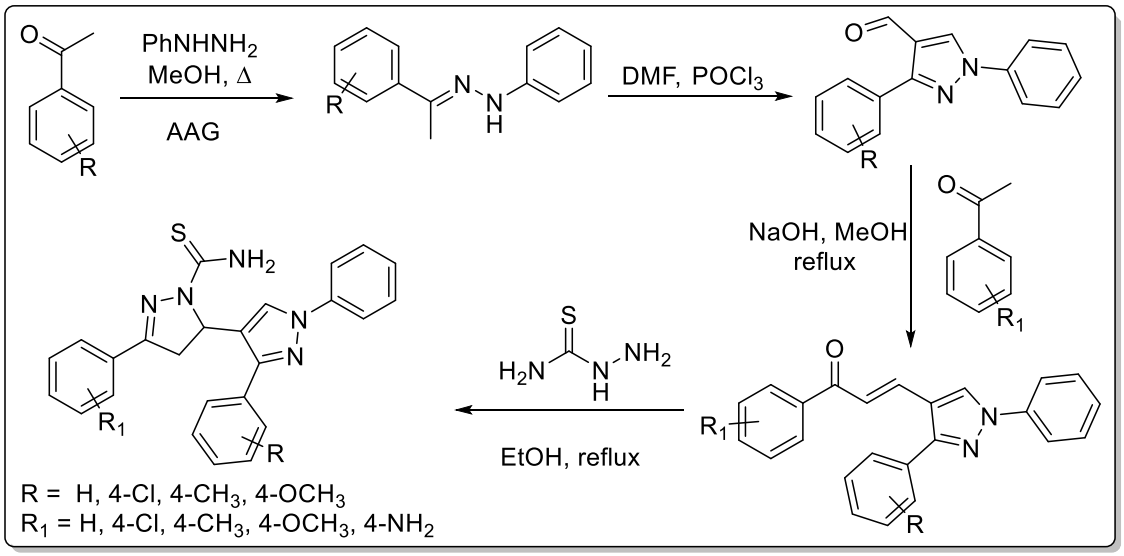


Schéma IV.6

L'étude bibliographique réalisée montre l'intérêt d'avoir recours à la synthèse des systèmes hétérocycliques hybrides. L'hybridation moléculaire peut être considérée comme une approche prometteuse pour la conception de nouvelles molécules biologiquement actives.

III. Synthèse de molécules hybrides à base de pyrazole

Afin d'améliorer le profil pharmacologique des dérivés du pyrazole préalablement synthétisés et examinés [31,32,34], et vu l'intérêt biologique que peuvent avoir les hybrides associant plusieurs pharmacophores dans une seule structure, nous avons opté pour la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques hybrides par le couplage du motif pyrazole avec des entités hétérocycliques de structures diverses à savoir la pyrazoline et l'isoxazoline, susceptibles de présenter des applications pharmacologiques potentielles (*schéma IV.7*).

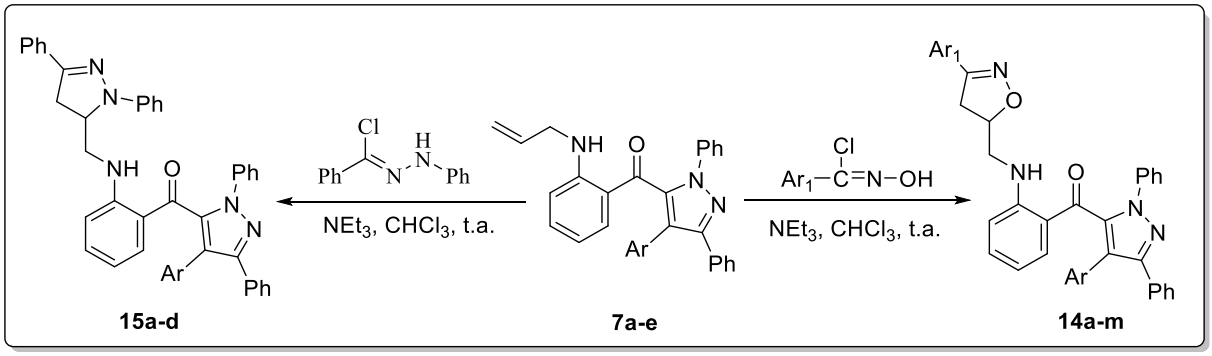


Schéma IV.7

III.1. Synthèse de molécule hybride pyrazole-isoxazoline

Les produits pyrazoliques allylés **7** issus de la réaction de la *N*-alkylation avec le bromure d'allyle sont ensuite engagés comme dipolarophiles dans la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 avec les dipôles-1,3 de type oxydes de nitriles pour la synthèse des nouveaux composés hétérocycliques hybrides **14a-m** [33]. Les arylnitriloxydes sont générés *in situ* à partir des aldoximes chlorés par l'action de la triéthylamine dans le chloroforme. Les chlorures d'arylhydroxamoyle en tant que précurseurs d'arylnitriloxydes ont été préparés selon la méthodologie indiquée dans la littérature [42–44]. La réaction de cycloaddition aboutit à la formation de nouvelles molécules hybrides **14a-m** dont le squelette est formé des deux noyaux isoxazolinique et pyrazolique liées par un linker méthylaminobenzoyl (*schéma IV.8*). Les produits hybrides synthétisés sont purifiés par chromatographie sur colonne et recristallisés. L'élucidation complète de la structure des nouveaux hétérocycles hybrides synthétisés est effectuée par IR, RMN ^{1}H, RMN ^{13}C, COSY (^{1}H–^{1}H) et HMQC (^{1}H–^{13}C) et confirmée par la spectroscopie de masse à haute résolution.

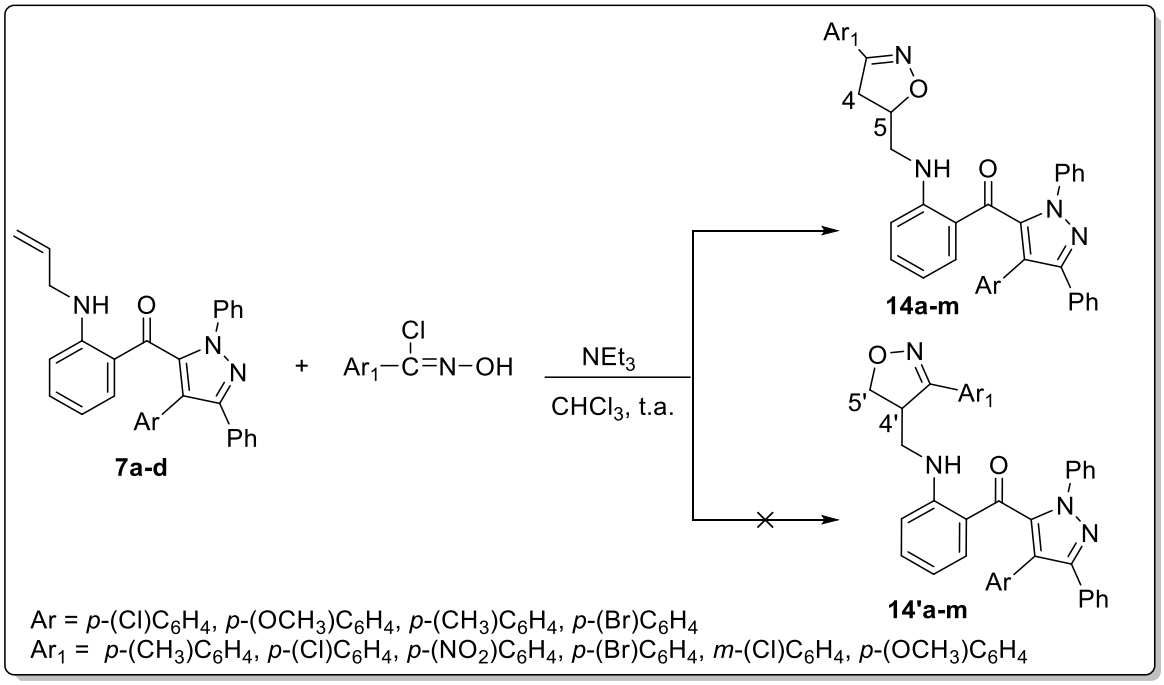


Schéma IV.8. Procédé de synthèse de molécules hybrides pyrazole-isoxazoline **14a-m**

L'analyse des données spectrales des produits obtenus révèle que toutes les réactions de cycloaddition dipolaire-1,3 entre les pyrazoles allylés et les oxydes de nitrile, ont abouti à un seul régioisomère **14** en l'absence de toute trace de produit **14'** (*schéma IV.8*). Ce résultat est en parfait accord avec les données de la littérature sur la régiochimie de la cycloaddition des oxydes de nitrile avec des composés allyliques similaires utilisés comme dipolarophiles [29,45–47]. La régiochimie des isoxazolines **14a-m** obtenues est établie sur la base des déplacements chimiques des protons (H_4 et H_5) et des carbones (C_4 et C_5) du cycle isoxazolinique par référence aux composés analogues.

Les résultats RMN du composé hybride **14a** ont été discutés ici en tant que composé représentatif de cette étude. En effet, le spectre RMN du proton du composé hybride **14a** réalisé dans le $CDCl_3$ (*figure IV.3*), montre en particulier l'existence d'un multiplet entre 4,98 et 5,07 ppm correspondant au proton du groupe méthine H_5 du centre stéréogénique du noyau isoxazolinique. Cette valeur de déplacement chimique obtenue est cohérente avec le déplacement chimique du proton H_5 du régoisomère isoxazoline 3,5-disubstitué [29,45–47]. Les deux hydrogènes diastéréotopiques attachés aux groupes méthylène voisins du centre stéréogénique de l'isoxazoline $C_4H_AH_M$ résonnent à 3,15 ppm ($J(H_AH_M)$ = 7,3 ; 16,69 Hz) et 3,43 ppm ($J(H_AH_M)$ = 10,47 ; 16,69 Hz), et apparaissent comme deux doublets dédoublés sous forme des systèmes AB en raison du couplage proton-proton géminal et vicinal. La valeur du déplacement chimique des protons H_5 et H_4 du cycle isoxazoline est en bon accord avec celle trouvée dans la littérature et confirme la formation d'un seul régioisomère à savoir

l'isoxazoline 3,5-disubstituée [29,45–47]. Le spectre montre également la présence d'un signal multiplet attribuable aux deux protons méthyléniques liés à l'atome d'azote qui apparaissent entre 3,50 et 3,57 ppm, et un signal triplet situé à 8,99 ppm correspondant au proton du groupe -NH de l'amine secondaire.

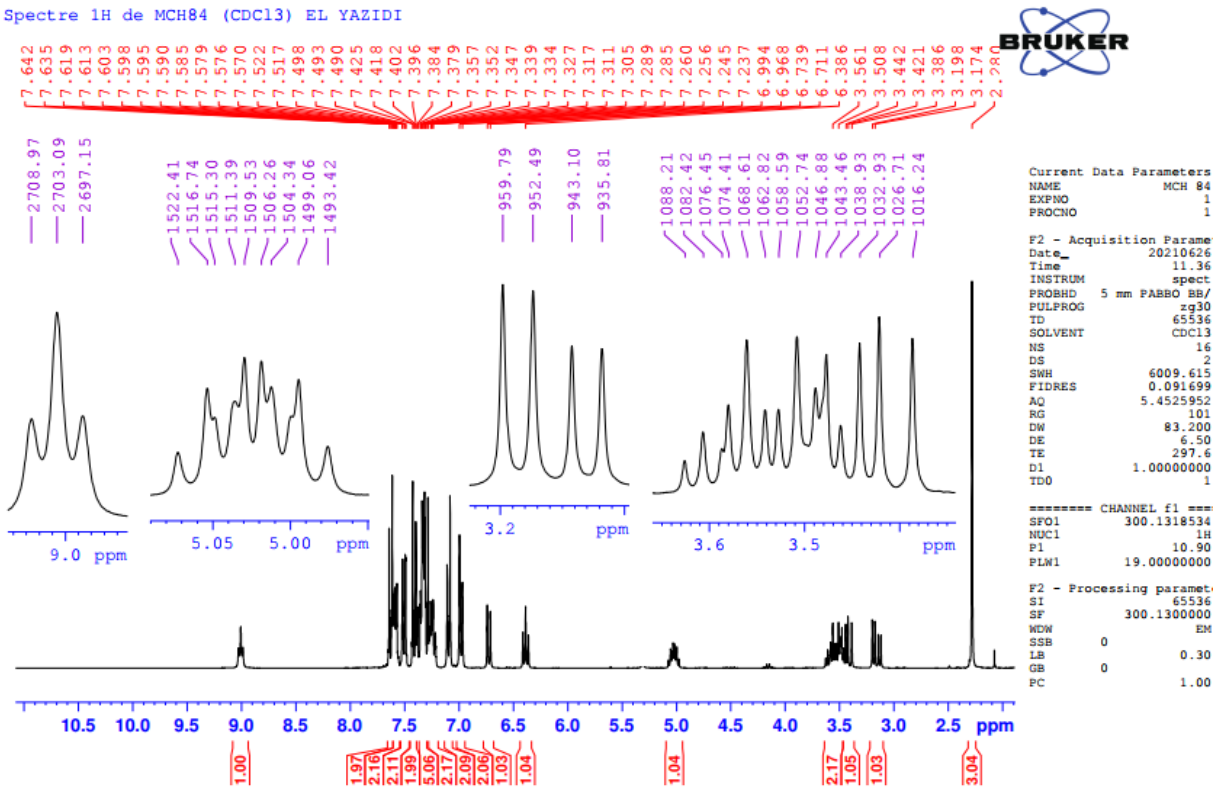


Figure IV.3. Spectre de RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) du composé **14a**

L'analyse du spectre RMN ^{13}C du même composé enregistré dans le chloroforme (*figure IV.4*), montre en outre des signaux attribuables aux protons aromatiques, l'existence d'un signal situé à 38 ppm attribuable au carbone méthylène de l'isoxazoline C_4 et le carbone méthine asymétrique C_5 de l'isoxazoline à 79 ppm, en plus d'un signal à 45 ppm relatif au carbone méthylène lié à l'atome d'azote. On observe aussi un signal situé à 190 ppm correspondant au carbone cétonique.

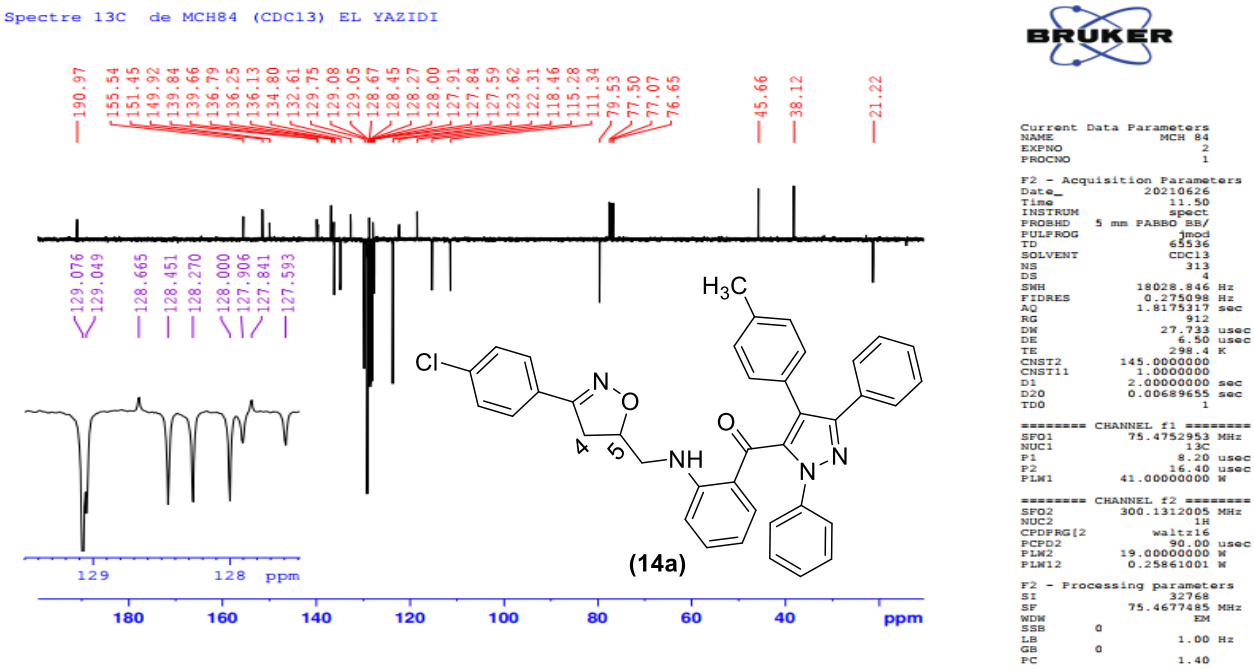


Figure IV.4. Spectre RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 75 MHz) du composé **14a**

Le déplacement chimique du carbone asymétrique de l'isoxazoline (79 ppm) est en bon accord avec la régiochimie proposée et en parfait accord avec la littérature [29,45–47]. Cette valeur de déplacement chimique largement déblindée pour un carbone aliphatique ne peut être que celle d'un carbone lié à un hétéroatome. Ce qui implique que le régioisomère obtenu au cours de cette réaction est un dérivé de l'isoxazoline 3,5-disubstitué (régioisomère **14**). En revanche, le carbone stéréogénique de l'isoxazoline 3,4-disubstitué (régioisomère **14'**) devrait avoir une valeur de déplacement chimique plus faible puisqu'il serait éloigné de l'atome d'oxygène (*figure IV.6*). Ces données spectrales (*figure IV.5*) sont en faveur du régioisomère **14** et confirment la régiosélectivité de l'action des arylnitriloxydes sur les pyrazoles allylés utilisés comme dipolarophiles. Ce processus de régio-contrôle peut être expliqué par le contrôle stérique de l'approche de l'oxyde d'arylnitrile sur les deux côtés du dipolarophile **7a** telle que décrite dans la *figure IV.6*.

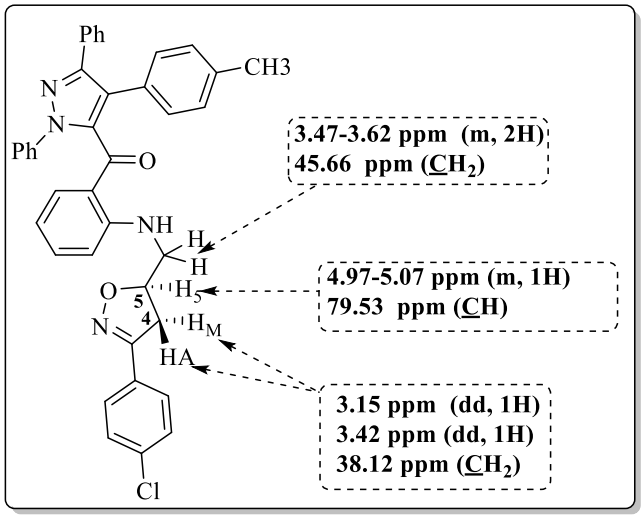


Figure IV.5. Signaux caractéristiques dans les spectres RMN ^{1}H et ^{13}C de composé **14a**.

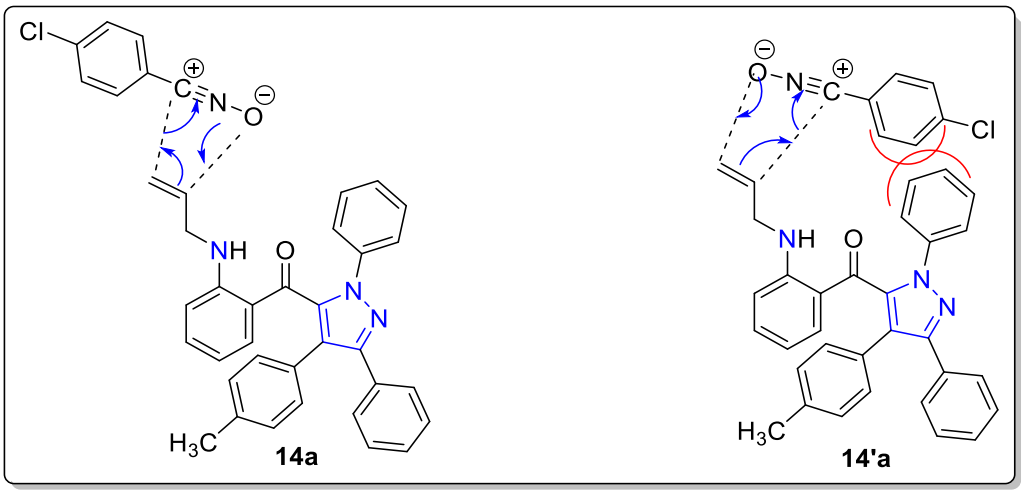


Figure IV.6. Le contrôle stérique de la régiosélectivité de la réaction de CD-1,3 du dipolarophile **7a** et l'oxyde de nitrile.

Pour confirmer d'avantage la régiosélectivité de la réaction de cycloaddition et l'attribution des signaux faite sur la base des spectres RMN-1D, nous avons procédé à une étude spectrale en RMN 2D avec les techniques COSY (corrélation ^{1}H–^{1}H) et HMQC (corrélation ^{1}H–^{13}C). Sur le spectre RMN-2D homonucléaire (*figure IV.7*), on observe une bonne corrélation entre les protons méthylène et méthine du noyau isoxazoline, aussi la corrélation entre le proton méthine et les protons méthylènes liés à l'atome d'azote. Ceci confirme les constations précédentes. De plus, sur le spectre de la RMN 2D hétéronucléaire (*figure IV.8*), on remarque que les deux protons méthylènes de l'isoxazoline qui résonnent à 3,15 et 3,43 ppm sont corrélés avec le carbone du même groupe (C_4). Ceci confirme d'avantage les valeurs des déplacements chimiques attribuées à ces deux protons qui ne sont pas chimiquement équivalents.

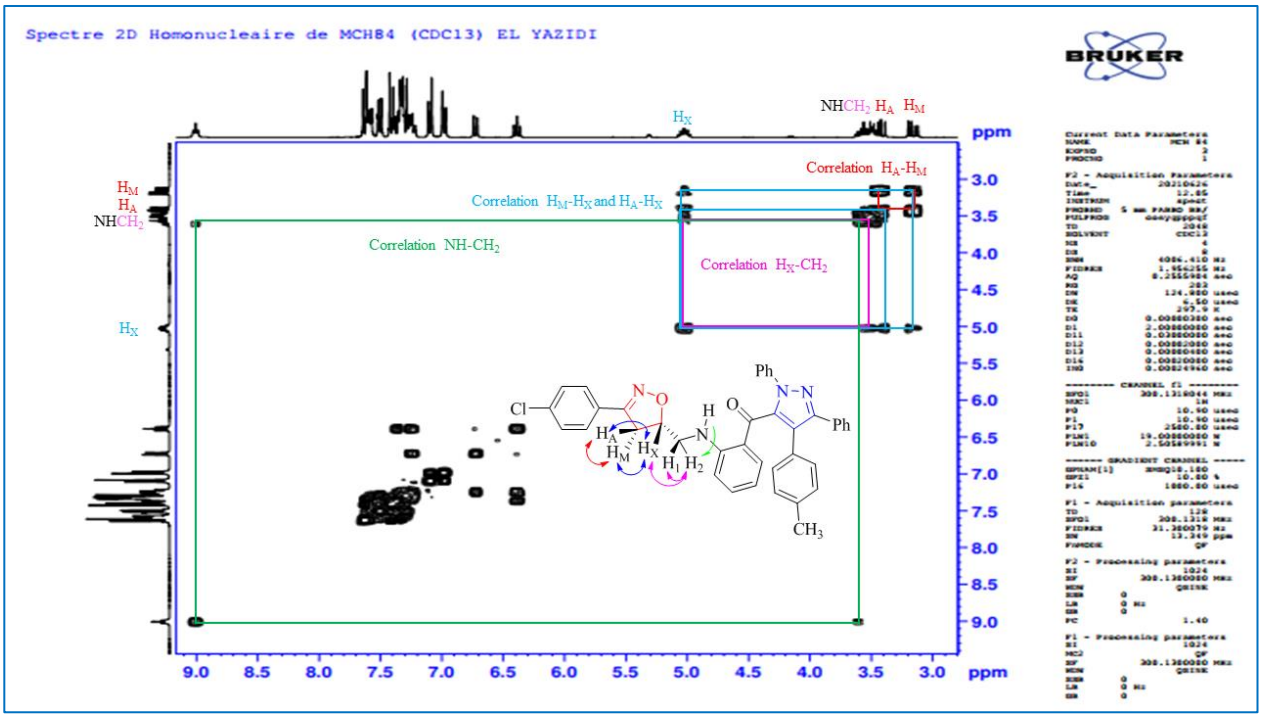


Figure IV.7. Spectre RMN-2D Homonucléaire COSY (corrélation $^{1}H–^{1}H$) du composé **14a**

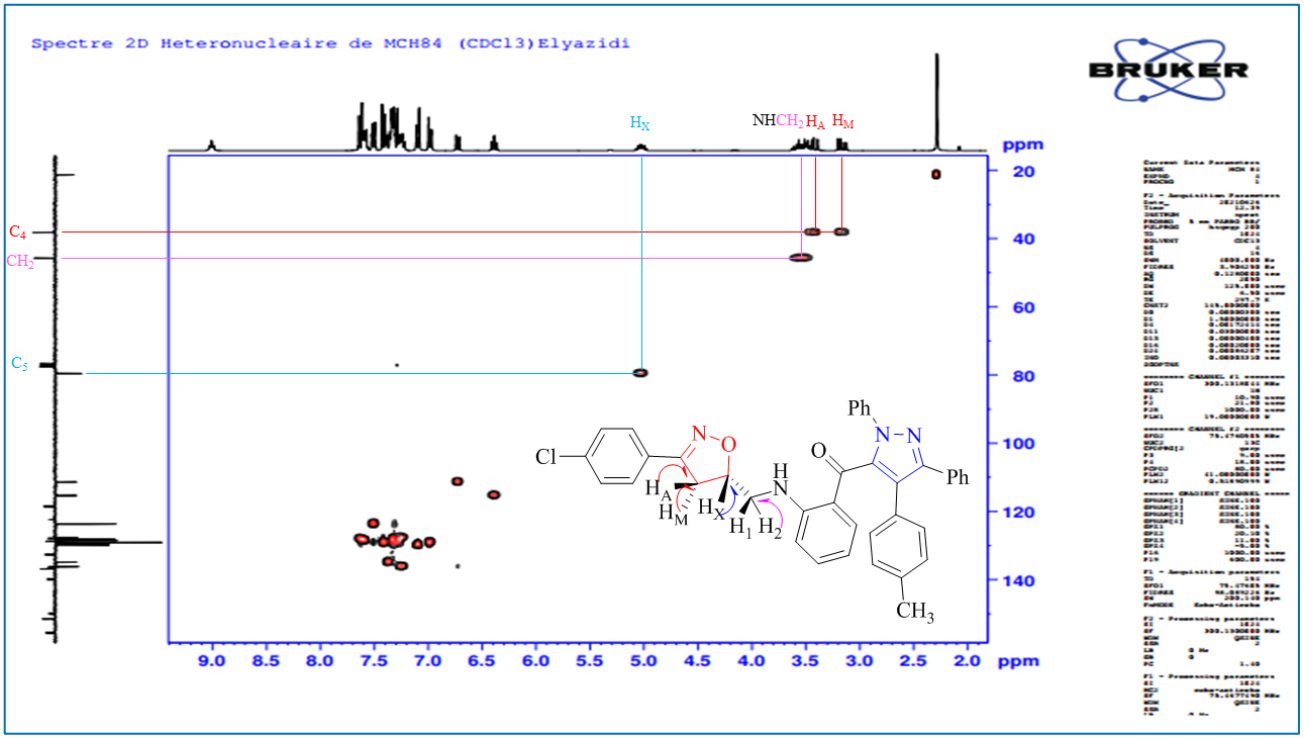


Figure IV.8. Spectre RMN-2D Hétéronucléaire HSQC (corrélation $^{1}H–^{13}C$) du composé **14a**

Le spectre infrarouge (IR) du composé hybride **14a** indique l'existence de deux bandes d'absorption caractéristiques aux vibrations des liaisons C-O et C=N du noyau isoxazoline et apparaissent à 1222 et 1573 cm^{-1}, respectivement. De même, il fait apparaître la présence de deux bandes d'absorption supplémentaires à 1622 et 3290 cm^{-1} attribuables aux vibrations des

liaisons C=O et NH du groupe carbonyle et de l'amine secondaire, respectivement (*tableau IV.1*).

Les spectres de masse de tous les nouveaux hybrides synthétisés pyrazole-isoxazoline ont mis en évidence la présence d'un pic d'ion moléculaire $[M+H]^+$, qui correspond à la masse exacte d'une seule molécule en parfaite cohérence avec la formule chimique des structures proposées (*tableau IV. 1*). À titre d'exemple, le spectre de masse de l'hybride **14a** présente un pic de l'ion moléculaire protoné [M+H]+ à m/z : 623,22079, confirmant la formule moléculaire de la structure suggérée [$C_{39}H_{31}ClN_4O_2$] (*figure IV.9*).

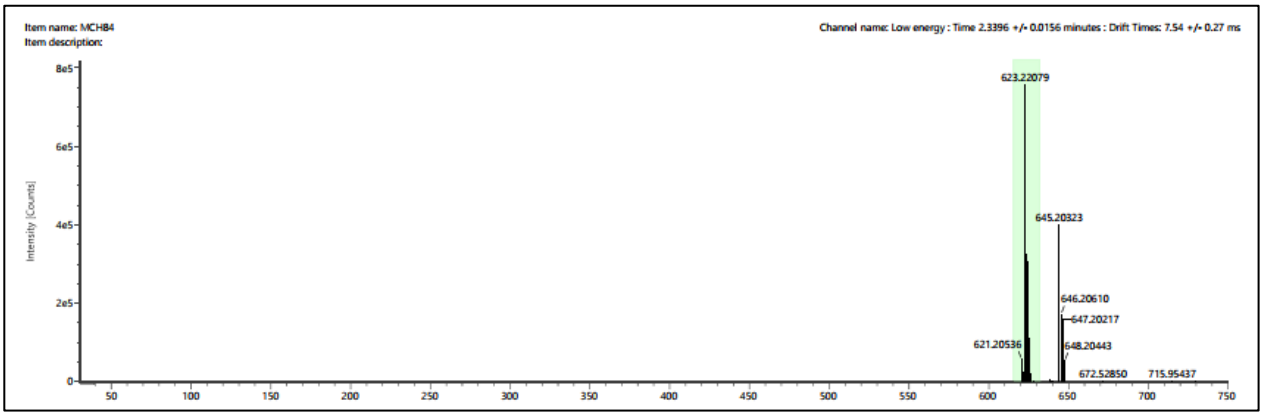


Figure IV.9. Spectre de masse de l'hybride **14a**

Tableau IV.1. Données de caractérisation physique et spectroscopique des composés synthétisés **14a-m**.

N°	Ar	Ar_1	P.F (°C)	RMN-^{1}H (ppm)	RMN ^{13}C (ppm)	IR (cm^{-1})	HRMS (m/z) [M+H]+
				N-C**H**$_2$ C**H**$_2$ C**H**	N-**C**H$_2$ **C**H$_2$ **C**H	NH C=O	
14a	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	*p*-$Cl(C_6H_4)$	164-166	3,47-3,62 (m, 2H) 3,15 (dd, 1H); 3,42 (dd, 1H) 4,97-5,07 (m, 1H)	45,66 38,12 79,53	3290 1622	623,22079
14b	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$Cl(C_6H_4)$	144-146	3,48-3,62 (m, 2H) 3,15 (dd, 1H); 3,42 (dd, 1H) 4,98-5,07 (m, 1H)	45,70 38,15 79,49	3301 1618	639,21677
14c	*p*-$Br(C_6H_4)$	*p*-$Cl(C_6H_4)$	152-154	3,49-3,60 (m, 2H) 3,15 (dd, 1H); 3,45 (dd, 1H) 4,98-5,08 (m, 1H)	45,72 38,10 79,46	3300 1620	687,11621
14d	*p*-$Cl(C_6H_4)$	*p*-$Cl(C_6H_4)$	166-168	3,51-3,63 (m, 2H) 3,16 (dd, 1H); 3,46 (dd, 1H) 5,00-5,09 (m, 1H)	45,07 38,12 79,43	3300 1616	643,16649
14e	*p*-$Br(C_6H_4)$	*p*-$NO_2(C_6H_4)$	184-186	3,55-3,65 (m, 2H) 3,21 (dd, 1H); 3,51(dd, 1H) 5,07-5,17 (m, 1H)	45,69 37,64 80,30	3315 1614	698,14121
14f	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	*p*-$NO_2(C_6H_4)$	180-182	3,45-3,64 (m, 3H) 3,22 (dd, 1H) 5,06-5,16 (m, 1H)	45,75 37,68 80,31	3315 1614	634,24529
14g	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$NO_2(C_6H_4)$	170-172	3,44-3,63 (m, 3H) 3,22 (dd, 1H) 5,06-5,16 (m, 1H)	45,73 37,67 80,30	3300 1620	650,24097
14h	*p*-$Br(C_6H_4)$	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	136-138	3,48-3,61 (m, 2H) 3,14 (dd, 1H); 3,43 (dd, 1H) 4,97-5,07 (m, 1H)	45,77 38,27 79,17	3319 1616	683,1661

14i	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	172-174	3,40-3,49 (m, 2H) 3,16 (dd, 1H); 3,57 (dd, 1H) 4,93-5,03 (m, 1H)	45,83 38,62 78,86	3325 1610	635,26591
14j	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	150-152	3,40-3,52 (m, 2H) 3,17 (dd, 1H); 3,58 (dd, 1H) 4,94-5,04 (m, 1H)	45,79 38,45 79,00	3298 1620	603,27545
14k	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$Br(C_6H_4)$	152-154	3,40-3,52 (m, 2H) 3,16 (dd, 1H); 3,44 (dd, 1H) 4,94-5,04 (m, 1H)	45,71 38,08 79,51	3300 1618	683,16602
14l	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	162-164	3,41-3,58 (m, 3H) 3,17 (dd, 1H) 4,95-5,04 (m, 1H)	45,85 38,48 78,55	3305 1618	619,27075
14m	*p*-$Cl(C_6H_4)$	*o*-$Cl(C_6H_4)$	180-190	3,49-3,59 (m, 2H) 3,36 (dd, 1H); 3,65 (dd, 1H) 5,02-5,11 (m, 1H)	45,64 40,68 79,70	3305 1620	643,16668

III.2. Synthèse de molécule hybride pyrazole-pyrazoline

Toujours avec le même objectif de préparer de nouvelles molécules susceptibles de présenter des propriétés biologiques accrues, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'autres molécules hybrides en combinant des dérivés de pyrazole à la fraction pyrazoline dans un seul squelette moléculaire.

Pour la synthèse des molécules cibles, nous avons utilisé la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des pyrazoles N-allylés précédemment préparés en tant que dipolarophiles avec les nitrilimines dans le chloroforme à température ambiante. Les nitrilimines sont générés *in situ* par la déshydrohalogénation des chlorures hydrazonoyles correspondants sous l'action de la triéthylamine [48]. Cette réaction nous a permis de préparer une nouvelle série de molécules hybrides possédant le motif pyrazole lié à une entité pyrazolinique séparés par un espaceur méthylaminobenzoyle (*schéma IV.9*). Les produits finaux sont obtenus avec des bons rendements après purification sur colonne de gel de silice. Ces composés ont été analysés par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN ^{1}H et RMN ^{13}C), ce qui a permis leur parfaite caractérisation.

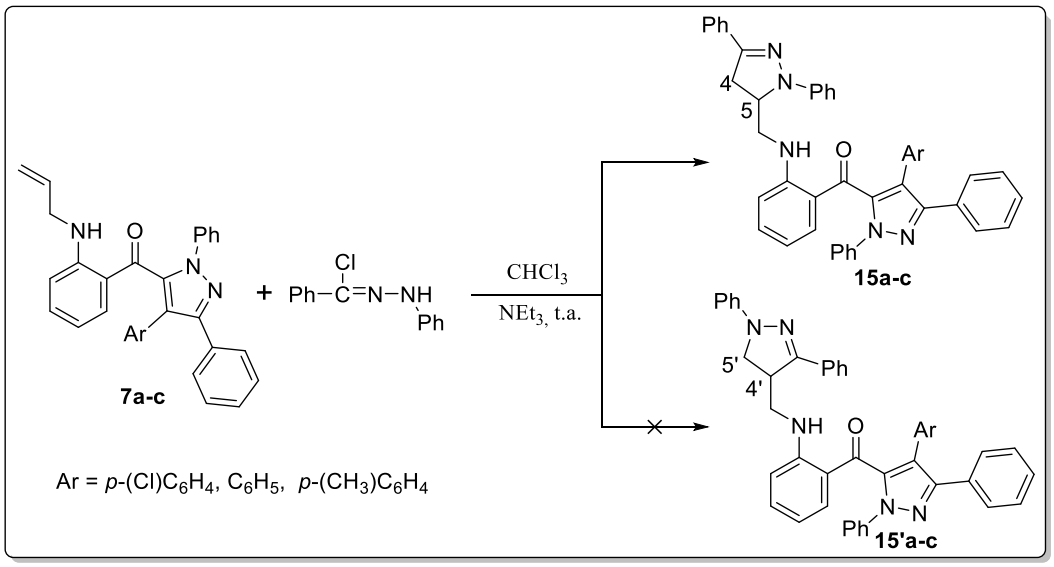


Schéma IV.9. Procédure de synthèse des molécules hybrides pyrazole-pyrazoline

L'analyse spectroscopique par RMN-^{1}H du produit purifié de la réaction de cycloaddition révèle la formation d'un seul régioisomère de structure **15**. Nous donnons dans la *figure IV.10* le spectre RMN-^{1}H du composé **15a** enregistré dans le chloroforme deutéré ($CDCl_3$) comme exemple représentatif. Ce spectre fait apparaître un signal multiplet entre 4,70 et 4,79 ppm attribuable au proton H_5 du régioisomère **15a**. Le déblindage observé du proton H_5 semble trouver une interprétation par l'effet électronégatif de l'atome d'azote pyrazolinique (régioisomère **15a**). Tandis que, dans le cas de la structure **15'a** on devrait s'attendre à des valeurs plus faibles pour le proton H_4. On relève sur le spectre aussi l'existence de deux doublets dédoublés sous formes des systèmes AB centrés à 3,20 ppm (J= 4,5, 17,1 Hz) et 3,50 ppm (J= 11,1 ; 17,1 Hz), respectivement, intégrant les deux protons méthylène CH_2 caractéristiques du cycle pyrazoline. Les deux autres signaux multiplets attribuables aux deux protons méthylène (CH_2) liés à l'atome d'azote de l'amine apparaissent dans les intervalles [3,28-3,37] ppm et [3,64-3,72] ppm, respectivement. Le signal triplet situé à 8,97 ppm correspond au proton de l'amine secondaire NH. En outre, l'attribution des signaux faites sur la base du spectre RMN-1D de proton a été confirmé davantage par le spectre RMN-2D homonucléaire (^{1}H-^{1}H) du même composé hybride **15a** qui montre une parfaite corrélation entre les protons voisins (*figure IV.11*)**.**

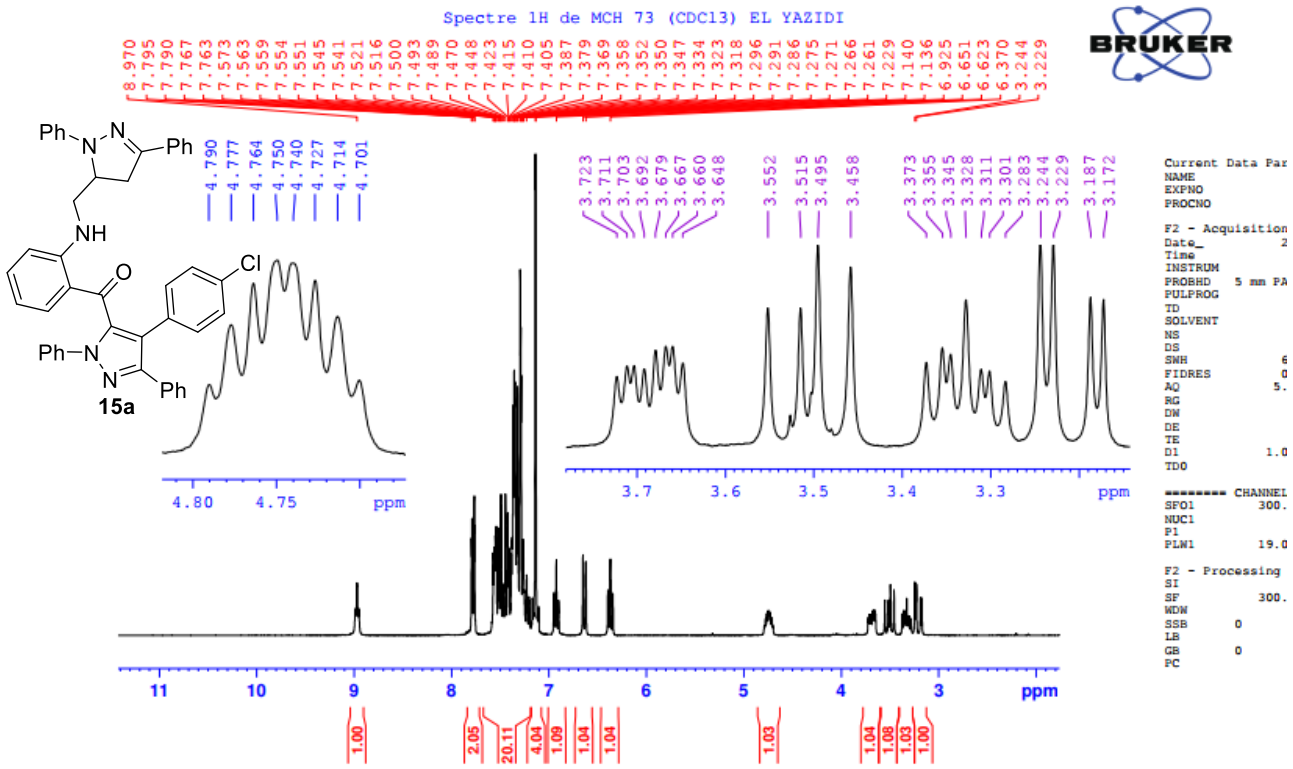


Figure IV.10. Spectre de RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) du composé **15a**

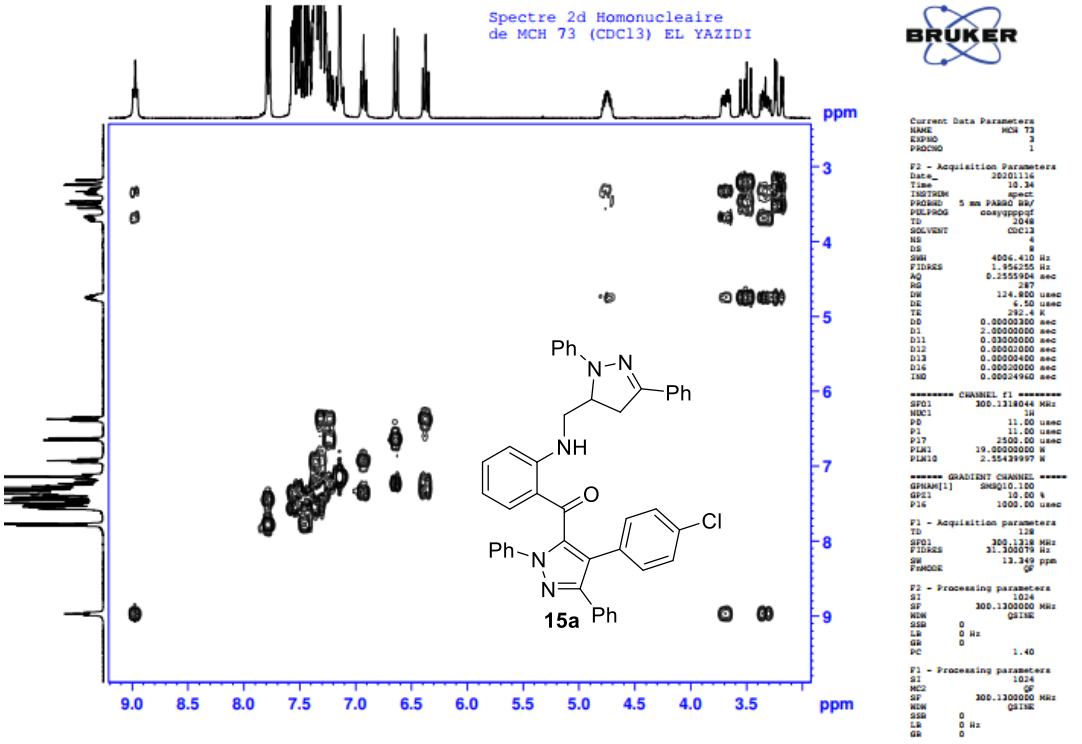


Figure IV.11. Spectre RMN 2D homonucléaire du composé **15a**

Les données de la RMN-^{13}C confirment davantage les propositions précédentes sur la régiochimie de l'hybride **15a** par les déplacements chimiques observés pour les carbones méthine C_5 et méthylène C_4 du noyau pyrazolinique à 58,93 ppm et à 37,07 ppm,

respectivement. De même, le spectre de RMN ^{13}C met en évidence deux autres signaux caractéristiques à savoir les signaux des carbones méthylénique et cétonique qui résonnent à 43,22 ppm et 190,48 ppm, respectivement. A titre d'illustration nous donnons dans la *figure IV.12.* Le spectre RMN-^{13}C du composé **15a** pris dans le chloroforme deutéré ($CDCl_3$).

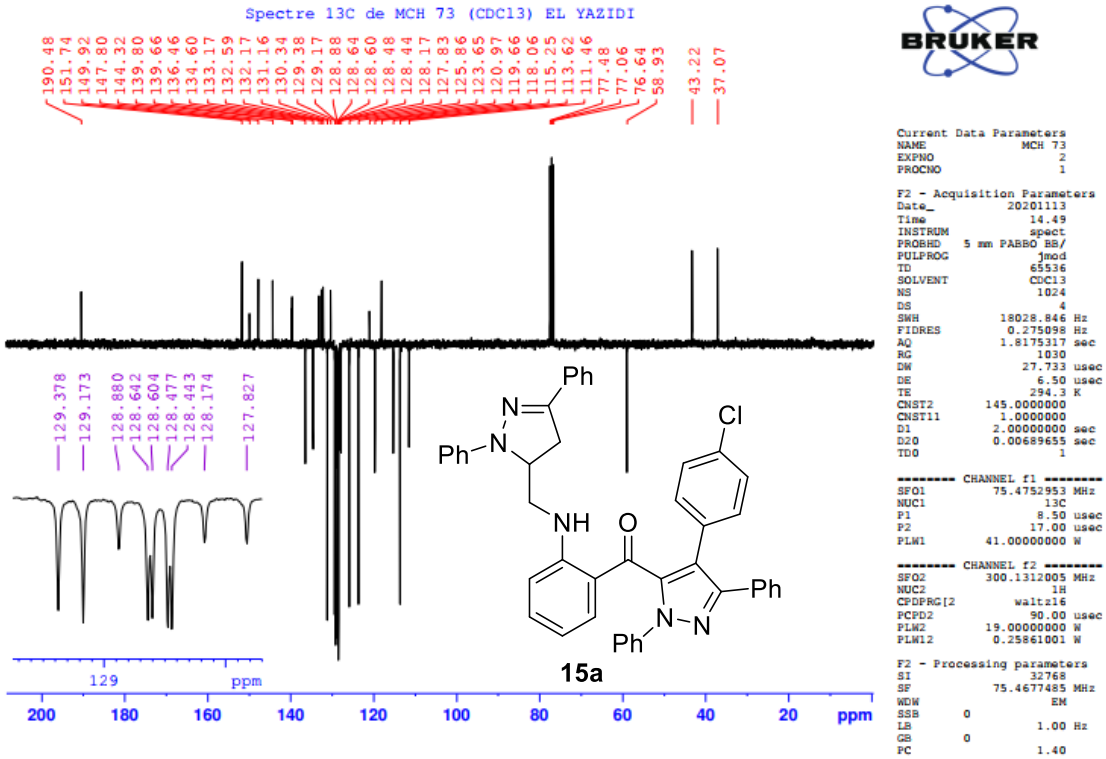


Figure IV.12. Spectre RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 75 MHz) du composé **15a**

IV. Activité antimicrobienne et étude de la relation structure-activité

La nouvelle classe des composés hétérocycliques hybrides pyrazole-isoxazoline synthétisée (**14a-m)** a été évaluée pour son activité antibactérienne contre deux bactéries Gram positifs : *Staphylococcus aureus* (CECT 976) et *Bacillus subtilis* (DSM 6633) et une bactérie Gram négatif : *Escherichia coli* (K12), nous avons également étudié son efficacité antifongique contre un champignon *Candida albicans* (ATCC 10231). Ceci est dans l'objectif d'évaluer la sensibilité des microbes aux différents composés hybrides synthétisés, ainsi que d'étudier l'impact des substituants couplé à l'incorporation du pharmacophore isoxazoline sur l'activité biologique des composés hybrides tout en comparant les résultats obtenus avec nos travaux antérieurs. Le dépistage antimicrobien *in vitro* des composés cibles a été réalisé à l'aide de la méthode de diffusion sur disque [49–52] et la technique de la micro-dilution en bouillon afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) [31,32]. Les résultats obtenus sont comparés à ceux des antibiotiques utilisés comme témoins positifs contre les espèces

bactériennes, à savoir l'Ampicilline et la Streptomycine. Le Fluconazole a été choisi comme médicament standard pour l'activité antifongique.

Les résultats obtenus à partir du dépistage antimicrobien préliminaire de tous les hybrides synthétisés en utilisant la méthode de diffusion sur disque sont exposés dans le *tableau IV.2.* Ils sont enregistrés pour chaque composé testé comme le diamètre moyen des zones d'inhibition en mm pour la croissance bactérienne ou fongique autour des disques.

Tableau IV.2. Activité antimicrobienne *in vitro* des composés hybrides (**14a-m**) et des médicaments standards contre les microbes testés par la méthode de diffusion sur disque.

Zone d'inhibition en mm (1 mg/ml) (moyenne ± DS)*										
Composés			**Microorganismes testés**							
N°	Ar	Ar_1	***E. coli* (-*ve*)**		***B. subtilis* (+*ve*)**		***C. albicans***		***S. aureus* (+*ve*)**	
			ZI (mm)	**IA (%)**	**ZI (mm)**	**IA (%)**	**ZI (mm)**	**IA (%)**	**ZI (mm)**	**IA (%)**
14a	p-(CH_3)C_6H_4	p-(Cl)C_6H_4	12,5±0,5	52	8±00	50	10,5±01	50	10,5±0,5	45,6
14b	p-(OCH_3)C_6H_4	p-(Cl)C_6H_4	14±01	58	AE	-	10,25±0,75	48,8	10±01	43,4
14c	p-(Br)C_6H_4	p-(Cl)C_6H_4	12,5±0,5	52	14,5±1,5	90,6	12,25±1,87	58,3	12±00	52,1
14d	p-(Cl)C_6H_4	p-(Cl)C_6H_4	13,5±1,5	56	10±00	62,5	11,5±0,5	54,7	18±01	78,6
14e	p-(Br)C_6H_4	p-(NO_2)C_6H_4	9,5±0,5	39	AE	-	12±01	57,1	10±01	43,4
14f	p-(CH_3)C_6H_4	p-(NO_2)C_6H_4	12±01	50	8,5±1,5	53,1	11,75±1,25	55,9	10,5±0,5	45,6
14g	p-(OCH_3)C_6H_4	p-(NO_2)C_6H_4	15±01	62,5	AE	-	11,25±0,75	53,5	12±02	52,1
14h	p-(Br)C_6H_4	p-(OCH_3)C_6H_4	13±01	54,1	15 ±01	93,7	12,25±2,12	58,3	12±01	52,1
14i	p-(OCH_3)C_6H_4	p-(OCH_3)C_6H_4	10,5±1,5	43,7	9±01	56,2	10,5±0,5	50	11,5±0,5	50
14j	p-(CH_3)C_6H_4	p-(CH_3)C_6H_4	13±02	54,1	8,5±0,5	53,1	10,5±0,5	50	13,5±3,5	58,6
14k	p-(OCH_3)C_6H_4	p-(Br)C_6H_4	13,5±1,5	56	12±00	75	11±01	52,3	11±02	47,8
14l	p-(OCH_3)C_6H_4	p-(CH_3)C_6H_4	13±03	54,1	9,5±0,5	59,3	11,25±1,25	53,5	7,5±0,5	32,6
14m	p-(Cl)C_6H_4	o-(Cl)C_6H_4	14±00	58	7±0,5	43,7	11,5±0,3	54,7	11±02	47,8
Ampicilline			NT	-	16±0,3	100	NT	-	23±0,5	100
Fluconazole			NT	-	NT	-	21±01	100	NT	-
Streptomycine			24±1,5	100	NT	-	NT	-	NT	-
DMF			6 (PZI)	-	6 (PZI)	-	6 (PZI)	-	6 (PZI)	-
Disque de papier filtre			6 (PZI)	-	6 (PZI)	-	6 (PZI)	-	6 (PZI)	-

* Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne ± déviation standard de deux expériences pour les bactéries et de quatre expériences pour la levure. PZI = Pas de zone d'inhibition ; le diamètre du disque de papier filtre est de 6 mm ; NT : Non testé ; AE : Ce composé n'a aucun effet ou un effet négligeable sur cette souche ; IA : Indice d'activité.

Selon les résultats obtenus, les composés hybrides cibles **14(a-m)** manifestent une activité antimicrobienne variable vis-à-vis des micro-organismes pathogènes testés bien que leurs structures soient similaires. La différence observée au niveau de l'activité inhibitrice entre les divers composés hybrides étudiés **14(a-m)** peut être liée à l'effet et la nature des groupements

portés par les cycles phényles (Ar et Ar_1) des noyaux pyrazole et l'isoxazoline. Ceci est cohérent avec des rapports de la littérature qui ont montré que les substituants donneurs et attracteurs d'électrons comme le chlore, le brome, le méthyle, le méthoxy et le groupement nitro affectent l'activité biologique [53–55]. Comme l'indiquent les résultats obtenus certains composés portant des substituants spécifiques se sont révélés plus actifs. Parmi les hybrides testés, le composé **14d** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4)) montre une excellente activité antibactérienne contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de (18±01) mm et un pourcentage d'inhibition de 78,6%, en comparaison avec le médicament standard, l'ampicilline (23±0,5) mm (*figure IV.13 et 14*). Cette puissante activité inhibitrice obtenue pour le composé **14d** est due probablement à l'existence de deux atomes de chlore (Cl) en position para sur les cycles aromatiques (Ar et Ar_1). Cependant, la modification de la position de l'atome de chlore du groupement Ar1 a entrainé une diminution importante de l'effet antibactérien du composé **14m** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= *o*-Cl(C_6H_4)) contre la même souche (*S. aureus*). La diminution de la bio-activité du composé **14m** en comparaison avec celle de l'hybride **14d** peut être liée à des interactions défavorables du chlore en position ortho-phényle qui empêche sa capacité pour inhiber la souche *S. aureus*. De plus, la substitution du chlore par d'autres groupes en position para des cycles aromatiques (Ar et Ar_1) entraine une diminution de l'efficacité antimicrobienne des hybrides cibles.

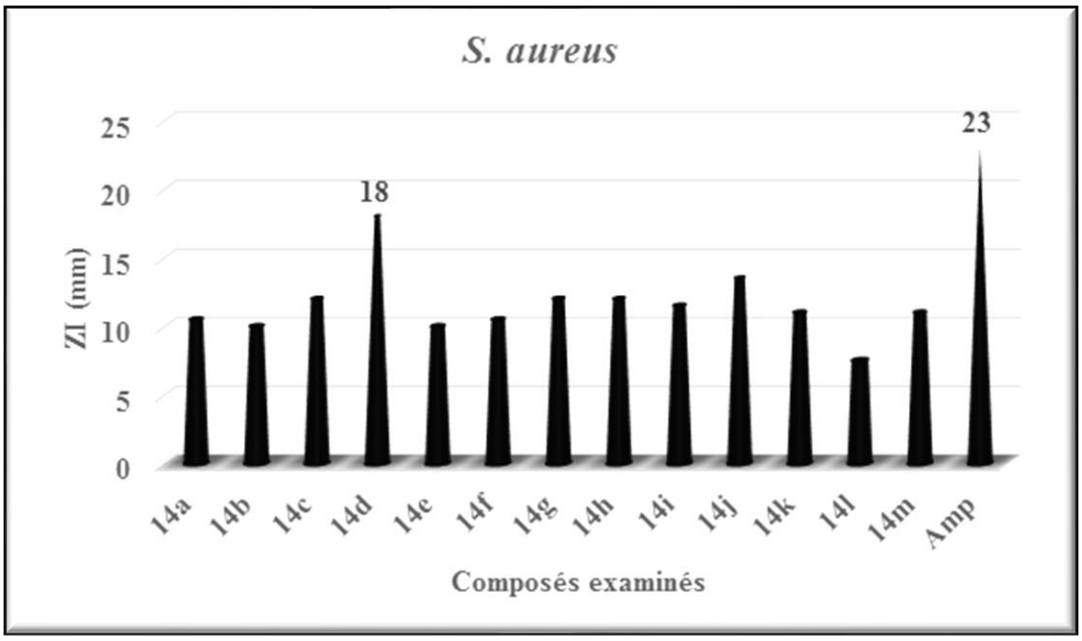


Figure IV.13. Effet antibactérien des hybrides examinés et l'ampicilline (Amp) contre souche *S. aureus*

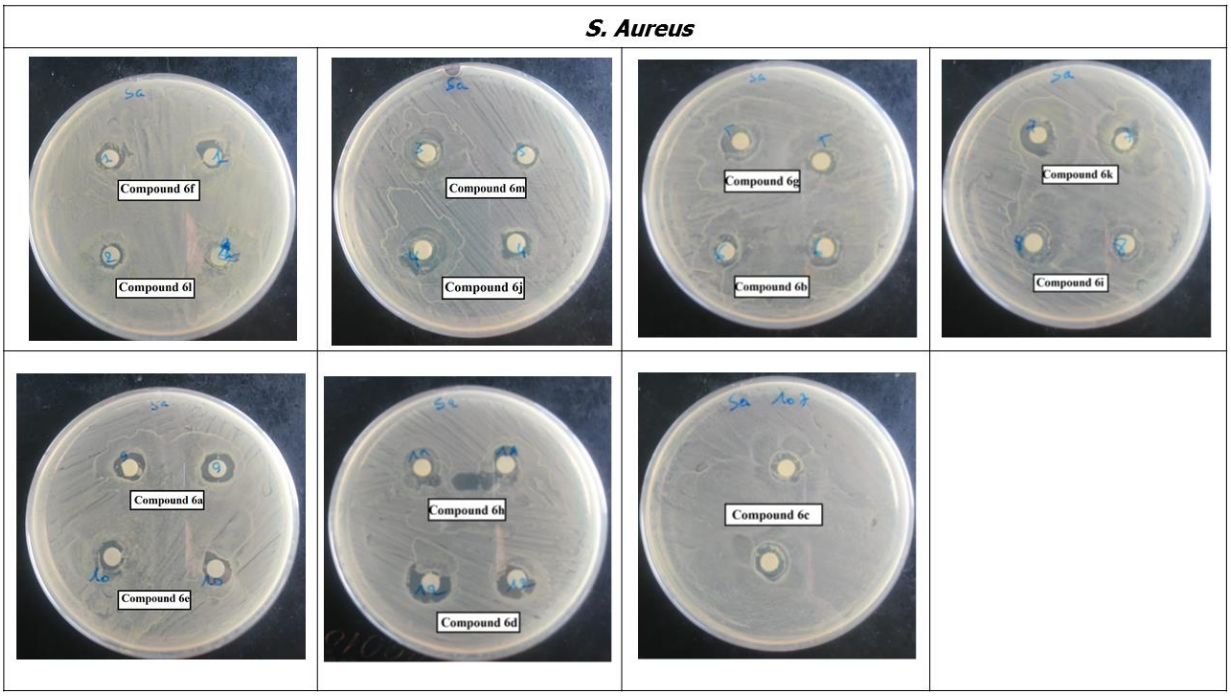


Figure IV.14. Photos montrant l'effet des composés hybrides sur la souche *S. aureus*.

La bactérie à Gram positif *B. subtilis* (DSM 6633) quant-à-elle a montré une sensibilité remarquable envers les composés hybrides **14h** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-OCH_3(C_6H_4)) et **14c** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4)) avec une zone d'inhibition de 15±01 mm et 14,5±1,5 mm et des taux d'inhibition de 93,7 et 90,6 %, respectivement, en comparaison avec le médicament de référence, Ampicilline (16±0,3mm) (*figure IV.15*). La légère diminution observée pour le composé **14c**, peut être attribuée à l'atome de chlore en tant que groupement attracteur d'électron qui affecte négativement cette activité. Ceci a été confirmé lors de l'introduction du groupe fortement attracteur d'électron NO_2 dans le composé **14e** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-NO_2(C_6H_4)). La substitution du brome par le groupement OCH_3 dans le composé **14k** (Ar= *p*-OCH_3(C_6H_4), Ar_1= *p*-Br(C_6H_4)) a montré une légère chute de l'activité en comparaison avec le composé **14h** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-OCH_3(C_6H_4)), ce qui suggère que l'atome de brome sur le substituant Ar est meilleur pour inhiber la croissance de la bactérie *B. subtilis*. Résultat similaire à ceux décrits dans la littérature pour des composés portant les mêmes substituants [56].

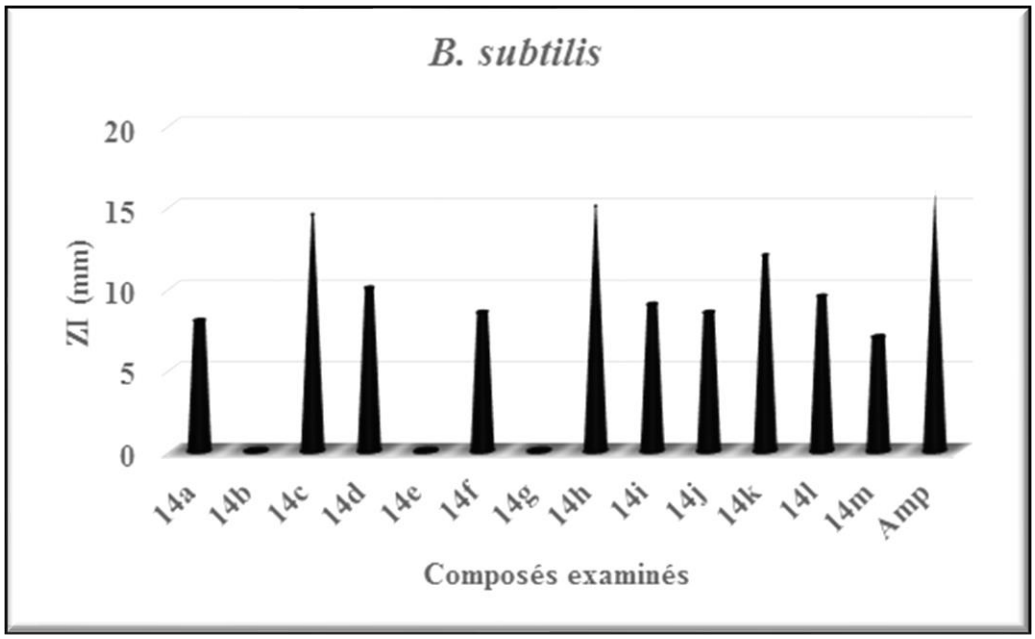


Figure IV.15. Effet antibactérien des hybrides examinés et l'ampicilline contre souche *B. subtilis*

D'autre part, la bactérie Gram négatif *E. coli* est inhibée par presque la plupart des composés hétérocycles hybrides testés avec un effet antibactérien modéré à bon en comparaison avec le témoin. Parmi les composés hybrides testés, le composé **14g** (Ar= *p*-$OCH_3(C_6H_4)$, Ar_1= *p*-$NO_2(C_6H_4)$) est le plus actif contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de 15±01 mm et un taux d'inhibition de 62,5% en comparaison avec la streptomycine (24±1,5 mm) (*figure IV.16* et *17*). La substitution du groupe méthoxy OCH_3 par le brome ou le méthyle dans les composés **14e** (Ar= *p*-$Br(C_6H_4)$, Ar_1= *p*-$NO_2(C_6H_4)$) et **14f** (Ar= *p*-$CH_3(C_6H_4)$, Ar_1= *p*-$NO_2(C_6H_4)$) entraine une diminution de l'efficacité antibactérienne. De même, le remplacement du substituant NO_2 par le chlore ou le brome dans les composés hybrides **14b** (Ar= *p*-$OCH_3(C_6H_4)$, Ar_1= *p*-$Cl(C_6H_4)$) et **14k** (Ar= *p*-$OCH_3(C_6H_4)$, Ar_1= *p*-$Br(C_6H_4)$) a également entraîné une légère diminution de l'effet antibactérien. Ces résultats suggèrent que la présence à la fois des groupements OCH_3 dans Ar et NO_2 dans Ar_1 est le plus efficace pour inhiber la croissance de la bactérie Gram négatif *E. coli,* ce qui est cohérent avec ceux rapportés dans des travaux précédents [56,57]. Globalement, les hétérocycles hybrides **14a-m** testés ont présenté un indice d'activité inhibitrice élevé contre les bactéries Gram positif que la bactérie Gram négatif en comparaison avec les médicaments standards, ce qui corroborent les données de la littérature [56,58].

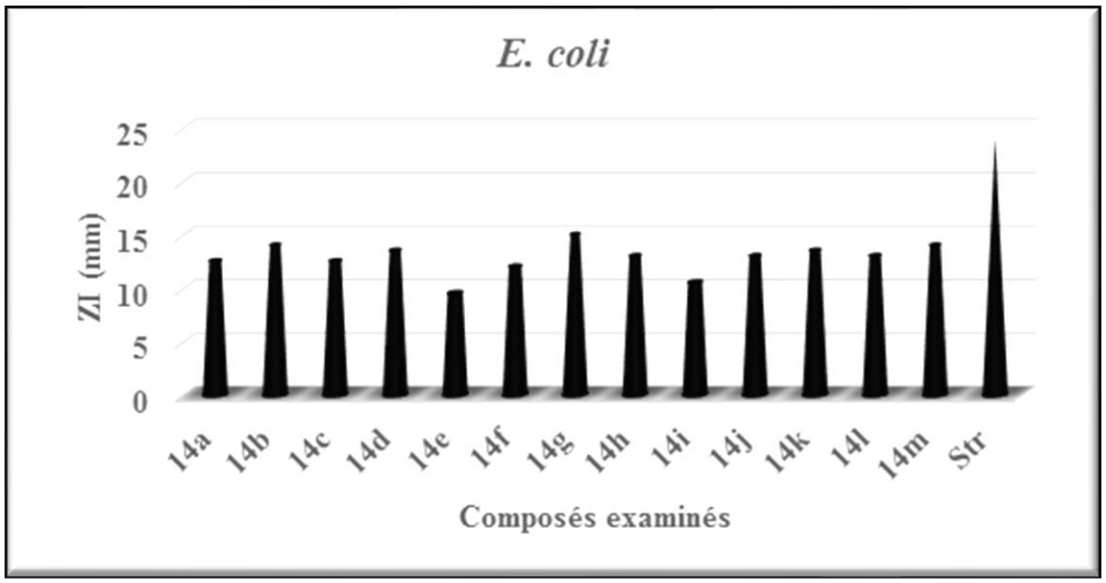


Figure IV.16. Activité antibactérienne des hybrides testés (**14a-m**) et la Streptomycine (Str) contre la souche *E. coli*

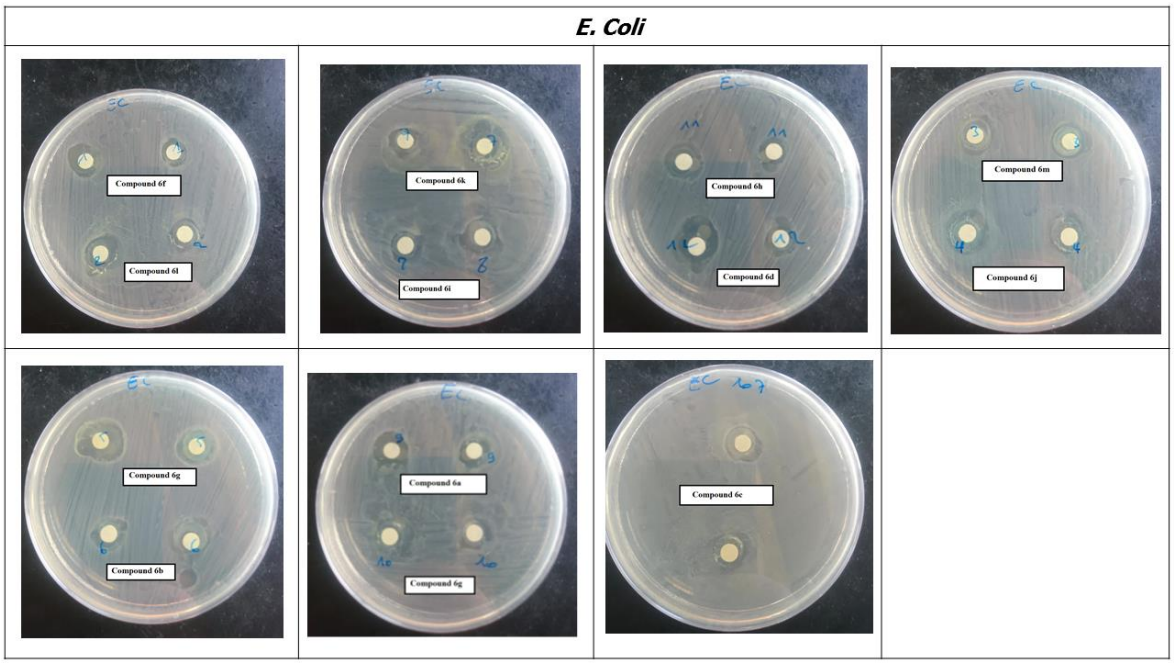


Figure IV.17. Photos illustrant l'effet des composés hybrides sur la souche *E. coli*.

Pour l'activité antifongique, la souche fongique *C. albicans* a présenté une sensibilité moyenne envers presque la plupart des hétérocycles hybrides testés. Parmi eux, les composés **14c** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4)), **14h** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-OCH_3(C_6H_4)) et **14e** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-NO_2(C_6H_4)) présentent une capacité antifongique modérée avec des zones d'inhibition de 12,25±1,87 mm (58,3%), 12,25±2,12 mm (58,3%) et 12±01 mm (57,1%), en comparaison avec le Fluconazole (21±01 mm). D'après ces résultats on remarque que le substituant attracteur d'électrons NO_2 a provoqué une légère diminution de l'effet antifongique. Le même phénomène est observé lors de la substitution du brome par un chlore

dans le groupement Ar des composés hybrides **14d** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4)) et **14m** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= *o*-Cl(C_6H_4)), ces derniers présentent une inhibition de croissance de 54,7% (11,5 mm) contre *C. albicans*. Les résultats obtenus montrent l'importance de l'atome du brome dans le groupement Ar pour l'activité antifongique, ce qui est en contraste avec notre précèdent travail dans lequel on a montré que le remplacement du brome par un halogène plus électronégatif comme le chlore entraine une amélioration de l'activité antifongique contre la souche *C. albicans* pour des dérivés pyrazoliques [31].

En outre, la méthode de dilution en série double a été utilisée afin de déterminer les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) (exprimées en µg/ml) pour les composés testés. Les résultats des CMI pour les composés hétérocycliques hybrides étudiés sont rassemblés dans le *tableau IV.3.* Ils indiquent que parmi les hybrides testés, les composés **14d** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4))**, 14m** (Ar= *p*-Cl(C_6H_4), Ar_1= o-Cl(C_6H_4)) et **14g** (Ar= *p*-OCH_3(C_6H_4), Ar_1= *p*-NO_2(C_6H_4)) se sont avérés les plus actifs contre *S. aureus* avec des valeurs de CMI de 11,7 μg/ml, 23,43 μg/ml et 31,25 μg/ml proches du standard l'ampicilline (3,9 μg/ml). Le composé **14c** (Ar= *p*-Br(C_6H_4), Ar_1= *p*-Cl(C_6H_4)) montre une excellente activité contre *B. subtilis* et *C. albicans* avec de CMI de 23,43 μg/ml et 62,5 μg/ml, respectivement. De plus, les composés **14g** (Ar= *p*-OCH_3(C_6H_4), Ar_1= *p*-NO_2(C_6H_4)) et **14i** (Ar= *p*-OCH_3(C_6H_4), Ar_1= *p*-OCH_3(C_6H_4)) présentent une activité antibactérienne potentielle contre la bactérie Gram-négatif *E. coli* avec des valeurs de CMI de 31,25 μg/ml, en comparaison avec la streptomycine (7.8 μg/ml). Globalement, les résultats de la bio-activité observée pour les composés hybrides pyrazole-isoxazoline (**14a-m**) sont prometteurs et nettement supérieurs à ceux obtenus avec les dérivés de pyrazole décrits dans nos précédents travaux [31,32]. Ces résultats peuvent être attribué l'effet synergique entre les pharmacophores pyrazole et isoxazoline, ce qui est cohérents au concept d'hybridation moléculaire [7,59].

Tableau IV.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMIs) des hybrides synthétisés contre les bactéries et le champignon pathogènes testés.

CMI in µg/ml (*n* = 2)*						
Composés			**Microorganismes testés**			
N°	Ar_1	Ar_2	***E. coli***	***B. subtilis***	***C. albicans***	***S. aureus***
14a	*p*-CH_3(C_6H_4)	*p*-Cl(C_6H_4)	125	375	125	125
14b	*p*-OCH_3(C_6H_4)	*p*-Cl(C_6H_4)	62,5	-	125	250
14c	*p*-Br(C_6H_4)	*p*-Cl(C_6H_4)	62,5	23,43	62,5	187,5
14d	*p*-Cl(C_6H_4)	*p*-Cl(C_6H_4)	62,5	125	187,5	11,7
14e	*p*-Br(C_6H_4)	*p*-NO_2(C_6H_4)	250	-	125	250

14f	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	*p*-$NO_2(C_6H_4)$	62,5	500	125	375
14g	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$NO_2(C_6H_4)$	31,25	-	62,5	31,25
14h	*p*-$Br(C_6H_4)$	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	250	46,87	62,5	187,5
14i	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	31,25	375	187,5	250
14j	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	250	250	62,5	187,5
14k	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$Br(C_6H_4)$	46,87	62,5	93,7	125
14l	*p*-$OCH_3(C_6H_4)$	*p*-$CH_3(C_6H_4)$	46,87	250	62,5	250
14m	*p*-$Cl(C_6H_4)$	*o*-$Cl(C_6H_4)$	125	375	125	23,43
Ampicilline			NT	7,81	NT	3,9
Fluconazole			NT	NT	15,62	NT
Streptomycine			7,81	NT	NT	NT

* Les valeurs sont représentées en tant que moyenne de deux expériences.

V. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons préparé de nouveaux systèmes hétérocycliques originaux renfermant dans leur squelette le motif pyrazole couplé à l'isoxazoline **14** d'une part et la pyrazoline **15** d'autre part via la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 des pyrazoles *N*-allylés en tant que dipolarophiles avec les dipoles-1,3 de type nitriles oxydes et nitrilimines. Les réactions entreprises s'effectuent correctement dans la plupart des cas, et donnent les produits souhaités d'une manière hautement régiosélective et avec des bons rendements en produits purs. Les structures de tous les produits préparés ont été établies par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN-^{1}H, RMN-^{13}C) et confirmées par la spectrométrie de masse. Les nouveaux composés hybrides pyrazole-isoxazoline ont été testés pour leur activité antimicrobienne. Les résultats obtenus montrent que l'introduction des isoxazolines permet d'accéder à une nouvelle classe de famille de composés dont la plupart ont montré des activités antimicrobiennes intéressantes. De plus, les molécules hybrides à base de pyrazole ont présenté une efficacité plus intéressante que celles des pyrazoles fonctionnalisés par les sulfonamides et les groupements amides.

Partie expérimentale

a) Mode opératoire général de synthèse des hybrides pyrazole-isoxazoline 14a-m

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant et d'un tube de garde à $CaCl_2$, 1 mole de dipolarophile **7a-d** et 1,2 mole de chlorure d'arylhydroxamoyle sont dissous dans 20 ml de chloroforme. Ensuite, 1,2 mole de triéthylamine anhydre sont ajoutés lentement sous agitation magnétique à ce mélange. Après l'addition, l'agitation est maintenue à température ambiante pendant le temps approprié, et la progression de la réaction est suivie par CCM. Une fois la réaction est terminée, le mélange réactionnel est transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec du chloroforme, puis lavé trois fois avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre. Après filtration, le solvant est éliminé dans l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : hexane/éther (4/1)), le produit obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

***5-(2-(3-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-1H-pyrazole (14a)* :** Rdt (73 %); P.f.: 164-166 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3290 (N-**H**), 3066 (Ar-**H**), 2929, 2854 (C-**H** aliphatique), 1622 (C=O), 1595, 1573 (2 C=N), 1519, 1498, 1458, 1427 (C=C), 1222 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 2.28 (s, 3H, C**H**$_3$), 3.15 (dd, 1H, *J* = 16.6, 7.3 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.42 (dd, 1H, *J* = 16.6, 10.4 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.47-3.62 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 4.97-5.07 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), 6.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.71-6.75 (m, 3H, Ar–**H**), 7.09-7.13 (m, 2H, Ar–**H**), 7.22-7.35 (m, 8H, Ar–**H**), 7.37-7.42 (m, 2H, Ar–**H**), 7.49-7.52 (m, 2H, Ar–**H**), 7.56-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 9.01 (t, 1H, N**H**, *J* = 5.9 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 21.22 (**C**H_3), 38.12 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.66 (N–**C**H_2), 79.53 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.34, 115.28, 118.46, 122.31, 123.62, 127.59, 127.84, 127.91, 128.00, 128.27, 128.45, 128.67, 129.05, 129.08, 129.75, 132.61, 134.80, 136.13, 136.25, 136.79, 139.66, 139.84, 149.92 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.45 (**C**–NH_2), 155.54 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 190.97 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}ClN_4O_2+H]^+$ 623.22084, masse trouvée : 623.22079.

***5-(2-(3-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14b)* :** Rdt (67 %); P.f.: 144-146 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3301 (N-**H**), 3064 (Ar-**H**), 2929, 2866 (C-**H** aliphatique), 1618 (C=O), 1595, 1571 (2 C=N), 1514, 1500, 1454, 1434 (C=C), 1222 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 3.15 (dd, 1H, *J* = 16.5, 7.2 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.42 (dd, 1H, *J* = 16.6, 10.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.48-3.62 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.98-5.07 (m, 1H,

C**H**$_{isoxazoline}$), 6.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.71-6.75 (m, 3H, Ar–**H**), 7.09-7.13 (m, 2H, Ar–**H**), 7.22-7.35 (m, 8H, Ar–**H**), 7.37-7.42 (m, 2H, Ar–**H**), 7.49-7.52 (m, 2H, Ar–**H**), 7.56-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 8.99 (t, 1H, N**H**, *J* = 6 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): δ_C 38.15 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.70 (N–**C**H$_2$), 55.12 (O**C**H$_3$) 79.49 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.35, 113.80, 115.28, 118.42, 122.04, 123.59, 123.98, 127.57, 127.83, 127.89, 127.99, 128.28, 128.40, 129.08, 131.07, 132.61, 134.80, 136.15, 136.25, 139.61, 139.85, 149.87 (**C**=N$_{pyrazole}$), 151.44 (**C**–NH$_2$), 155.54 (**C**=N$_{isoxazoline}$), 158.73 (**C**–OCH$_3$), 190.98 (**C**=O$_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}ClN_4O_3+H]^+$ 639.21677, masse trouvée : 639.21682.

***4-(4-bromophenyl)-5-(2-(3-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14c)* :** Rdt (81 %); P.f.: 152-154 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3300 (N-**H**), 3068 (Ar-**H**), 2927, 2869 (C-**H** aliphatique), 1620 (C=O), 1596, 1571 (2 C=N), 1519, 1496, 1458, 1427 (C=C), 1220 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): δ_H 3.15 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.45 (dd, 1H, *J* = 16.8, 10.8 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.49-3.60 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 4.98-5.08 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), 6.39 (td, 1H, *J* = 7.2, 0.9 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–**H**), 7.06 (t, 2H, *J* = 1.8 Hz, Ar–**H**), 7.24-7.33 (m, 10H, Ar–**H**), 7.34-7.35 (m, 2H, Ar–**H**), 7.40-7.56 (m, 4H, Ar–**H**), 7.61-7.64 (m, 2H, Ar–**H**), 9.01 (t, 1H, N**H**, *J* = 6 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): δ_C 38.10 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.72 (N–**C**H$_2$), 79.46 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.52, 115.36, 118.20, 120.97, 121.42, 123.63, 127.81, 127.99, 128.17, 128.43, 128.47, 129.11, 129.15, 130.84, 131.50, 132.17, 134.54, 136.29, 136.40, 139.66, 139.79, 149.87 (**C**=N$_{pyrazole}$), 151.56 (**C**–NH$_2$), 155.54 (**C**=N$_{isoxazoline}$), 190.45 (**C**=O$_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{38}H_{28}BrClN_4O_2+H]^+$ 687.11650, masse trouvée : 687.11621.

***4-(4-chlorophenyl)-5-(2-(3-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14d)* :** Rdt (74 %); P.f.: 166-168 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3300 (N-**H**), 3062 (Ar-**H**), 2920, 2850 (C-**H** aliphatique), 1616 (C=O), 1595, 1569 (2 C=N), 1519, 1496, 1427 (C=C), 1217 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): δ_H 3.16 (dd, 1H, *J* = 16.5, 6.9 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.46 (dd, 1H, *J* = 16.5, 10.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.51-3.63 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 5.00-5.09 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), 6.38 (td, 1H, *J* = 7.2, 0.9 Hz, Ar–**H**), 7.13 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz, Ar–**H**), 7.27-7.35 (m, 4H, Ar–**H**), 7.40-7.54 (m, 16H, Ar–**H**), 7.59 (td, 2H, *J* = 6.6, 2.1 Hz, Ar–**H**), 9.01 (t, 1H, N**H**, *J* = 6.1 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (*δ*/ppm): δ_C 38.12 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.07 (N–**C**H$_2$), 79.43 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.48, 115.35, 118.14, 120.99, 127.75, 127.81, 127.99, 128.15, 128.43,

128.46, 128.58, 129.11, 129.16, 130.33, 131.16, 132.15, 133.15, 134.58, 136.31, 136.40, 139.63, 139.78, 149.90 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.55 (**C**–NH_2), 155.54 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 190.46 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{38}H_{28}Cl_2N_4O_2+H]^+$ 643.16666, masse trouvée : 643.16649.

4-(4-bromophenyl)-5-(2-(3-(4-nitrophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14e) : Rdt (83 %); P.f.: 184-186 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3315 (N-**H**), 3084 (Ar-**H**), 2918, 2856 (C-**H** aliphatique), 1614 (C=O), 1596, 1573 (2 C=N), 1519, 1498, 1433 (C=C), 1215 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 3.21 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.51 (dd, 1H, *J* = 16.5, 10.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.55-3.65 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 5.07-5.17 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.40 (td, 1H, *J* = 7.8, 0.9 Hz, Ar–**H**), 6.74 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–**H**), 7.05 (dt, 2H, *J* = 9, 2.1 Hz, Ar–**H**), 7.25-7.36 (m, 10H, Ar–**H**), 7.47-7.55 (m, 4H, Ar–**H**), 7.84 (dt, 2H, *J* = 9.3, 2.4 Hz, Ar–**H**), 8.28 (dt, 2H, *J* = 9, 2.1 Hz, Ar–**H**), 9.00 (t, 1H, N**H**, *J* = 6 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 37.64 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.69 (N–**C**H_2), 80.30 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.46, 115.54, 118.27, 121.02, 121.42, 123.62, 124.08, 127.47, 127.80, 128.20, 128.45, 129.15, 130.82, 131.49, 132.09, 134.61, 135.31, 136.45, 139.64, 139.70, 148.59 (**C**–NO_2), 149.89 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.45 (**C**–NH_2), 155.00 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 190.55 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{38}H_{28}BrN_5O_4+H]^+$ 698.14172, masse trouvée : 698.14121.

5-(2-(3-(4-nitrophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl--4-(p-tolyl)-1H-pyrazole (14f) : Rdt (72 %); P.f.: 180-182 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3315 (N-**H**), 3085 (Ar-**H**), 2926, 2850 (C-**H** aliphatique), 1614 (C=O), 1598, 1573 (2 C=N), 1517, 1498, 1433 (C=C), 1215 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 2.29 (s, 3H, C**H**$_3$), 3.22 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.45-3.64 (m, 3H, 2H of N–C**H**$_2$ and 1H of C**H**$_{2isoxazoline}$), 5.06-5.16 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.40 (t, 1H, *J* = …Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–**H**), 6.97 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz, Ar–**H**), 7.07 (dd, 2H, *J* = 6.3, 1.8 Hz, Ar–**H**), 7.23-7.39 (m, 8H, Ar–**H**), 7.47-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**), 8.28 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_C 21.2 (**C**H_3), 37.68 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.75 (N–**C**H_2), 80.31 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.41, 115.60, 118.57, 122.37, 123.66, 124.06, 127.49, 127.65, 127.99, 128.29, 128.45, 128.57, 129.05, 129.09, 129.74, 132.42, 134.85, 135.35, 136.20, 136.85, 139.57, 139.72, 148.56 (**C**–NO_2), 149.91 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.19 (**C**–NH_2), 155.00 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 190.97 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}N_5O_4+H]^+$ 634.24591, masse trouvée : 634.24529.

4-(4-methoxyphenyl)-5-(2-(3-(4-nitrophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14g) : Rdt (58 %); P.f.: 170-172 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3300 (N-**H**), 3070 (Ar-**H**), 2927, 2854 (C-**H** aliphatique), 1620 (C=O), 1596, 1571 (2 C=N), 1515, 1502, 1458, 1431 (C=C), 1222 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 3.22 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.44-3.63 (m, 3H, 2H of N–**C**H_2 and 1H of C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 5.06-5.16 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.41 (t, 1H, *J* = 7.8 Hz, Ar–**H**), 6.69-6.74 (m, 3H, Ar–**H**), 7.10 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.24-7.39 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**), 8.28 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_C 37.67 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.73 (N–**C**H_2), 55.12 (s, 3H, O**C**H_3), 80.30 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.39, 113.79, 115.56, 118.51, 122.08, 123.61, 123.89, 124.05, 127.48, 127.61, 127.97, 128.31, 128.40, 129.10, 131.05, 132.45, 134.86, 135.33, 136.22, 139.53, 139.75, 148.56 (**C**–NO_2), 149.87 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.24 (**C**–NH_2), 155.00 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 158.73 (**C**–OCH_3), 190.00 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}N_5O_5+H]^+$ 650.24170, masse trouvée : 650.24097.

4-(4-bromophenyl)-5-(2-(3-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14h) : Rdt (86 %); P.f.: 136-138 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3319 (N-**H**), 3064 (Ar-**H**), 2929, 2842 (C-**H** aliphatique), 1616 (C=O), 1602, 1573 (2 C=N), 1523, 1500, 1431 (C=C), 1215 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 3.14 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.2 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.43 (dd, 1H, *J* = 16.5, 10.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.48-3.61 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.97-5.07 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.41 (t, 1H, *J* = 7.8 Hz, Ar–**H**), 6.69-6.74 (m, 3H, Ar–**H**), 7.10 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.24-7.39 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**), 8.28 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 38.27 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.77 (N–**C**H_2), 56.30 (s, 3H, O**C**H_3), 79.17 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.64, 111.98, 115.44, 118.20, 120.95, 122.66, 123.00, 123.67, 126.46, 127.86, 128.17, 128.43, 128.48, 128.64, 129.16, 130.78, 131.49, 131.52, 132.09, 134.53, 136.41, 139.58, 139.77, 149.84 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.45 (**C**–NH_2), 155.11 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 156.49 (**C**–OCH_3), 190.40 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}BrN_4O_3+H]^+$ 683.1656, masse trouvée : 683.1661.

4-(4-methoxyphenyl)-5-(2-(3-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14i) : Rdt (77 %); P.f.: 172-174 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3325 (N-**H**), 3076 (Ar-**H**), 2933, 2835 (C-**H** aliphatique), 1610 (C=O), 1568

(C=N), 1514, 1498, 1456, 1429 (C=C), 1218 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 3.16 (dd, 1H, *J* = 16.5, 6.9 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.40-3.49 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.57 (dd, 1H, *J* = 13.8, 5.7 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.86 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.93-5.03 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 3H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.49 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_C 38.62 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.83 (N–**C**H$_2$), 55.13 (s, 3H, O**C**H$_3$), 55.40 (s, 3H, O**C**H$_3$), 78.86 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.53, 113.82, 114.21, 115.27, 118.39, 121.84, 122.02, 123.62, 123.94, 127.61, 127.91, 128.30, 128.33, 128.42, 129.12, 131.07, 132.58, 134.75, 136.16, 139.66, 139.79, 149.83 (**C**=N$_{pyrazole}$), 151.41 (**C**–NH$_2$), 156.01 (**C**=N$_{isoxazoline}$), 158.72 (**C**–OCH$_3$), 161.21 (**C**–OCH$_3$), 190.87 (**C**=O$_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{40}H_{34}N_4O_4+H]^+$ 635.26611, masse trouvée : 635.26591.

1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-5-(2-(3-(p-tolyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1H-pyrazole (14j) : Rdt (83 %); P.f.: 150-152 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3298 (N-**H**), 3064 (Ar-**H**), 2920, 2856 (C-**H** aliphatique), 1620 (C=O), 1596, 1573 (2 C=N), 1517, 1500, 1456, 1425 (C=C), 1222 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 2.28 (s, 3H, C**H**$_3$), 2.41 (s, 3H, C**H**$_3$), 3.17 (dd, 1H, *J* = 16.5, 7.2 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.40-3.52 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.58 (dd, 1H, *J* = 13.8, 5.7 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 4.94-5.04 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 3H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.49 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_C 21.24 (s, 3H, **C**H$_3$), 21.51 (s, 3H, **C**H$_3$), 38.45 (**C**H$_{2isoxazoline}$), 45.79 (N–**C**H$_2$), 79.00 (**C**H$_{isoxazoline}$), 111.53, 115.31, 118.46, 122.30, 123.66, 126.48, 126.74, 127.64, 127.93, 128.28, 128.47, 128.63, 129.07, 129.11, 129.5, 129.75, 132.57, 134.75, 136.14, 136.8, 139.72, 139.77, 140.57, 149.87 (**C**=N$_{pyrazole}$), 151.39 (**C**–NH$_2$), 156.40 (**C**=N$_{isoxazoline}$), 190.87 (**C**=O$_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{40}H_{34}N_4O_2+H]^+$ 603.27622, masse trouvée : 603.27545.

5-(2-(3-(4-bromophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14k) : Rdt (88 %); P.f.: 152-154 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3300 (N-**H**), 3062 (Ar-**H**), 2927, 2852 (C-**H** aliphatique), 1618 (C=O), 1595, 1571 (C=N), 1517, 1500, 1456, 1434 (C=C), 1220 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (δ/ppm): δ_H 3.16 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.2 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.40-3.52 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.44 (dd, 1H, *J* = 13.8, 5.7 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.94-5.04 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 3H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.95 (d, 2H, *J* =

8.7 Hz, Ar–**H**), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.49 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (*δ*/ppm): δ_C 38.08 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.71 (N–**C**H_2), 55.13 (s, 3H, O**C**H_3), 79.51 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.38, 113.80, 115.32, 118.39, 122.04, 123.60, 123.95, 124.58, 127.60, 127.91, 128.21, 128.30, 128.41, 129.10, 131.07, 132.03, 132.57, 134.81, 136.18, 139.59, 139.81, 149.86 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.41 (**C**–NH_2), 155.64 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 158.71 (**C**–OCH_3), 190.96 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{39}H_{31}BrN_4O_3+H]^+$ 683.16608, masse trouvée : 683.16602.

4-(4-methoxyphenyl)-1,3-diphenyl-5-(2-(3-(p-tolyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1H-pyrazole (14l) : Rdt (84 %); P.f.: 162-164 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3305 (N-**H**), 3058 (Ar-**H**), 2927, 2854 (C-**H** aliphatique), 1618 (C=O), 1593, 1571 (2 C=N), 1519, 1500, 1454, 1429 (C=C), 1220 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (*δ*/ppm): δ_H 2.41 (s, 3H, C**H**$_3$), 3.17 (dd, 1H, *J* = 16.8, 7.2 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.41-3.58 (m, 3H, 2H of N–C**H**$_2$ and 1H of C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.74 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.95-5.04 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 3H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.49 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (*δ*/ppm): δ_C 21.50 (s, 3H, **C**H_3), 38.48 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.85 (N–**C**H_2), 55.12 (s, 3H, O**C**H_3), 78.55 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.55, 113.82, 115.32, 118.41, 122.03, 123.63, 123.93, 126.47, 126.73, 127.62, 127.92, 128.30, 128.42, 129.11, 129.50, 131.07, 132.56, 134.75, 136.16, 139.66, 139.77, 140.58, 149.82 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.37 (**C**–NH_2), 156.40 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 158.73 (**C**–OCH_3), 190.86 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{40}H_{34}N_4O_3+H]^+$ 619.27105, masse trouvée : 619.27075.

4-(4-chlorophenyl)-5-(2-(3-(2-chlorophenyl)-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole (14m) : Rdt (76 %); P.f.: 180-190 °C; **FT-IR** (υ_{max}, cm^{-1}): 3305 (N-**H**), 3058 (Ar-**H**), 2918, 2854S (C-**H** aliphatique), 1620 (C=O), 1595, 1569 (2 C=N), 1517, 1496, 1452, 1429 (C=C), 1220 (C-O); **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (*δ*/ppm): δ_H 3.36 (dd, 1H, *J* = 17.1, 6.9 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 3.49-3.59 (m, 2H, N–C**H**$_2$), 3.65 (dd, 1H, *J* = 17.1, 10.5 Hz, C**H**$_{2isoxazoline}$), 5.02-5.11 (m, 1H, C**H**$_{isoxazoline}$), **6**.38 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–**H**), 6.73 (d, 3H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 7.11-7.14 (m, 2H, Ar–**H**), 7.21-7.49 (m, 8H, Ar–**H**), 7.48-7.51 (m, 2H, Ar–**H**), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar–**H**), 7.84 (d, 2H, *J* = 9 Hz, Ar–**H**); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$+ D2O) (*δ*/ppm): δ_C 40.68 (**C**$H_{2isoxazoline}$), 45.64 (N–**C**H_2), 79.70 (**C**$H_{isoxazoline}$), 111.63, 115.33, 118.22, 120.97, 123.66,

127.12, 127.83, 128.15, 128.60, 128.78, 130.32, 130.57, 130.70, 131.07, 132.17, 132.87, 133.16, 134.53, 136.36, 139.63, 139.85, 149.88 (**C**=$N_{pyrazole}$), 151.53 (**C**–NH_2), 156.49 (**C**=$N_{isoxazoline}$), 190.39 (**C**=$O_{cétone}$); **ESI-QTOF-MS (m/z):** masse calculée pour $[C_{38}H_{28}Cl_2N_4O_2+H]^+$ 643.16704, masse trouvée : 643.16668.

b) Mode opératoire général de synthèse des hybrides pyrazole-pyrazoline 15a-c

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant et d'un tube de garde à $CaCl_2$, 1 mole de dipolarophile **7a-c** et 1,2 mole de chlorure d'hydrazonoyle sont dissous dans 20 ml de chloroforme. Ensuite, 1,2 mole de triéthylamine anhydre sont ajoutés lentement sous agitation magnétique à ce mélange. Après l'addition, l'agitation est maintenue à température ambiante pendant le temps approprié, et la progression de la réaction est suivie par CCM. Une fois la réaction est terminée, le mélange réactionnel est transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec du dichlorométhane, puis lavé trois fois avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), et filtré. Le solvant est éliminé par l'évaporateur rotatif, et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : hexane/éther (4/1)), le produit obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

4-(4-chlorophenyl)-1,3-diphenyl-5-(2-((1,3-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazolin-5-yl)methylamino)benzoyl)-1H-pyrazole (15a) : Rdt (74%); P.f.: 206-208 °C; **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 3.20 (dd, 1H, *J* = 4.5, 17.1 Hz, C**H**$_{2pyrazoline}$), 3.28-3.37 (m, 1H, N–C**H**$_2$), 3,50 (dd, 1H, *J* = 11.1, 17.1 Hz, C**H**$_{2pyrazoline}$), 3.64-3.72 (m, 1H, N–C**H**$_2$), 4.70-4.79 (m, 1H, C**H**$_{pyrazoline}$), 6.37 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, Ar–**H**), 6.63 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, Ar–**H**), 6.92 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, Ar–**H**), 7.13-7.29 (m, 3H, Ar–**H**), 7.31-7.57 (m, 20H, Ar–**H**), 7.76-7.79 (dd, 2H, *J* = 8.1, 1.2 Hz, Ar–**H**), 8.97 (t, 1H, N**H**, *J* = 6.5 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 37.07 (**C**H$_{2\ pyrazoline}$), 43.22 (N–**C**H$_2$), 58.93 (**C**H $_{pyrazoline}$), 111.46, 113.62, 115.25, 118.06, 119.66, 120.97, 123.65, 127.83, 128.17, 128.44, 128.48, 128.60, 128.88, 129.17, 129.38, 130.34, 131.16, 132.17, 132.59, 133.17, 134.60, 136.46, 139.66, 139.80, 144.32, 147.80 (**C**=N), 149.92 (**C**=N), 151.74 (**C**–NH_2), 190.48 (**C**=$O_{cétone}$).

1,3,4-triphenyl-5-(2-((1,3-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazolin-5-yl)methylamino)benzoyl)-1H-pyrazole (15b) : Rdt (82%); P.f.: 2012-2014 °C; **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 3.20 (dd, 1H, *J* = 4.2, 16.8 Hz, C**H**$_{2pyrazoline}$), 3.26-3.31 (m, 1H, N–C**H**$_2$), 3,47 (dd, 1H, *J* = 11.1, 16.8 Hz, C**H**$_{2pyrazoline}$), 3.66-3.75 (m, 1H, N–C**H**$_2$), 4.67-4.76 (m, 1H, C**H**$_{pyrazoline}$), 6.38 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz, Ar–**H**), 6.63 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–**H**), 6.92 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz, Ar–**H**), 7.20-7.44 (m, 21H, Ar–**H**), 7.52-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 7.76-7.78

(dd, 2H, *J* = 8.2, 1.5 Hz, Ar–**H**), 8.95 (t, 1H, N**H**, *J* = 5.7 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 37.06 (**C**$H_{2\ pyrazoline}$), 43.19 (N–**C**H_2), 58.99 (**C**H $_{pyrazoline}$), 111.33, 113.34, 113.63, 115.19, 118.36, 119.46, 122.37, 123.71, 125.86, 127.20, 127.71, 127.99, 128.31, 128.47, 128.60, 128.84, 129.13, 129.36, 129.94, 131.2, 132.49, 132.64, 134.81, 136.24, 139.81, 144.35, 147.79 (**C**=N), 149.91 (**C**=N), 151.61 (**C**–NH_2), 190.80 (**C**=$O_{cétone}$).

5-(2-((1,3-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazolin-5-yl)methylamino)benzoyl)-1,3-diphenyl-4-(p-tolyl)-1H-pyrazole : Rdt (66 %); P.f.: 200-202 °C; **RMN-^{1}H** (300 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_H 2.28 (s, 3H, CH_3), 3.20 (dd, 1H, *J* = 4.2, 17.1 Hz, C$\mathbf{H}_{2pyrazoline}$), 3.26-3.31 (m, 1H, N–C$\mathbf{H}_2$), 3,47 (dd, 1H, *J* = 11.1, 16.8 Hz, C$\mathbf{H}_{2pyrazoline}$), 3.67-3.76 (m, 1H, N–C$\mathbf{H}_2$), 4.67-4.76 (m, 1H, C$\mathbf{H}_{pyrazoline}$), 6.38 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz, Ar–**H**), 6.63 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–**H**), 6.92 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz, Ar–**H**), 7.20-7.44 (m, 21H, Ar–**H**), 7.52-7.61 (m, 4H, Ar–**H**), 7.76-7.78 (dd, 2H, *J* = 8.2, 1.5 Hz, Ar–**H**), 8.95 (t, 1H, N**H**, *J* = 5.7 Hz, échangeable avec D_2O); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) (δ/ppm): δ_C 21.23 (CH_3), 37.05 (**C**$H_{2\ pyrazoline}$), 43.219(N–**C**H_2), 58.98 (**C**H $_{pyrazoline}$), 111.40, 113.61, 115.30, 118.47, 119.63, 122.33, 123.68, 125.85, 127.66, 127.94, 128.28, 128.46, 128.59, 128.83, 129.06, 129.10, 129.35, 129.73, 132.52, 132.62, 134.84, 136.20, 136.83, 139.67, 139.77, 144.32, 147.81 (**C**=N), 151.49 (**C**–NH_2), 190.97 (**C**=$O_{cétone}$).

Références bibliographiques

1. Chang, H.-H.; Cohen, T.; Grad, Y.H.; Hanage, W.P.; O'Brien, T.F.; Lipsitch, M. Origin and Proliferation of Multiple-Drug Resistance in Bacterial Pathogens. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2015**, *79*, 101–116, doi:10.1128/mmbr.00039-14.
2. Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433, doi:10.1128/mmbr.00016-10.
3. Wright, G.D. Antibiotic Resistance in the Environment: A Link to the Clinic? *Curr. Opin. Microbiol.* **2010**, *13*, 589–594, doi:10.1016/j.mib.2010.08.005.
4. Alkhzem, A.H.; Woodman, T.J.; Blagbrough, I.S. Design and Synthesis of Hybrid Compounds as Novel Drugs and Medicines. *RSC Adv.* 2022, *12*, 19470–19484.
5. Nepali, K.; Sharma, S.; Sharma, M.; Bedi, P.M.S.; Dhar, K.L. Rational Approaches , Design Strategies , Structure Activity Relationship and Mechanistic Insights for Anticancer Hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 422–487, doi:10.1016/j.ejmech.2014.03.018.
6. Shaveta; Mishra, S.; Singh, P. Hybrid Molecules: The Privileged Scaffolds for Various Pharmaceuticals. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 500–536, doi:10.1016/j.ejmech.2016.08.039.
7. Meunier, B. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality? *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 69–77, doi:10.1021/ar7000843.
8. Meunier, B. Les Molécules Hybrides Comme Stratégie de Création de Nouveaux Agents Anti-Infectieux. *Comptes Rendus Chim.* **2011**, *14*, 400–405, doi:10.1016/j.crci.2010.01.010.
9. Xie, W.; Wu, Y.; Zhang, J.; Mei, Q.; Zhang, Y.; Zhu, N.; Liu, R.; Zhang, H. Design, Synthesis and Biological Evaluations of Novel Pyridone-Thiazole Hybrid Molecules as Antitumor Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *145*, 35–40, doi:10.1016/j.ejmech.2017.12.038.
10. Venepally, V.; Reddy Jala, R.C. An Insight into the Biological Activities of Heterocyclic–Fatty Acid Hybrid Molecules. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *141*, 113–137, doi:10.1016/j.ejmech.2017.09.069.
11. Singh, J.; Sharma, S.; Saxena, A.K.; Nepali, K.; Bedi, P.M.S. Synthesis of 1,2,3-Triazole Tethered Bifunctional Hybrids by Click Chemistry and Their Cytotoxic Studies. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 3160–3169, doi:10.1007/s00044-012-0312-7.
12. Nayak, N.; Ramprasad, J.; Dalimba, U.; Yogeeswari, P.; Sriram, D.; Kumar, H.S.S.; Peethambar, S.K.; Achur, R. Synthesis of New Pyrazole-Triazole Hybrids by Click Reaction Using a Green Solvent and Evaluation of Their Antitubercular and Antibacterial Activity. *Res. Chem. Intermed.* **2016**, *42*, 3721–3741, doi:10.1007/s11164-015-2241-9.
13. Sashidhara, K. V.; Avula, S.R.; Mishra, V.; Palnati, G.R.; Singh, L.R.; Singh, N.; Chhonker, Y.S.; Swami, P.; Bhatta, R.S.; Palit, G. Identification of Quinoline-Chalcone Hybrids as Potential Antiulcer Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 638–653, doi:10.1016/j.ejmech.2014.10.068.
14. Emmadi, N.R.; Bingi, C.; Kotapalli, S.S.; Ummanni, R.; Nanubolu, J.B.; Atmakur, K. Synthesis and Evaluation of Novel Fluorinated Pyrazolo-1,2,3-Triazole Hybrids as Antimycobacterial Agents. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2918–2922, doi:10.1016/j.bmcl.2015.05.044.
15. Srinivasa, R.T.; Kulhari, H.; Ganga, R. V.; Subba, R.A.V.; Bansal, V.; Kamal, A.; Shukla, R. Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazolo-Triazole Hybrids as Cytotoxic and Apoptosis Inducing Agents. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 10136–10149, doi:10.1039/C5OB00842E.

16. Bérubé, G. An Overview of Molecular Hybrids in Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2016**, *11*, 281–305, doi:10.1517/17460441.2016.1135125.
17. Jao, C.W.; Lin, W.C.; Wu, Y.T.; Wu, P.L. Isolation, Structure Elucidation, and Synthesis of Cytotoxic Tryptanthrin Analogues from Phaius Mishmensis. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1275–1279, doi:10.1021/np800064w.
18. Shanmugavelan, P.; Sathishkumar, M.; Nagarajan, S.; Ponnuswamy, A. An Efficient and Facile Synthesis of Novel 1,2,3-Triazolyl-N-Acylpyrazoline Hybrids. *Chinese Chem. Lett.* **2014**, *25*, 146–148, doi:10.1016/j.cclet.2013.10.015.
19. Pervaram, S.; Ashok, D.; Rao, B.A.; Sarasija, M.; Reddy, C.V.R. Design and Synthesis of New 1,2,3-Triazole-Pyrazole Hybrids as Antimicrobial Agents. *Russ. J. Gen. Chem.* **2017**, *87*, 2454–2461, doi:10.1134/S1070363217100280.
20. Azimi, F.; Azizian, H.; Najafi, M.; Hassanzadeh, F.; Sadeghi-aliabadi, H.; Ghasemi, J.B.; Ali Faramarzi, M.; Mojtabavi, S.; Larijani, B.; Saghaei, L.; et al. Design and Synthesis of Novel Quinazolinone-Pyrazole Derivatives as Potential α-Glucosidase Inhibitors: Structure-Activity Relationship, Molecular Modeling and Kinetic Study. *Bioorg. Chem.* **2021**, *114*, 105127, doi:10.1016/j.bioorg.2021.105127.
21. Lee, J.Y.; Shin, Y.S.; Jeon, S.; Lee, S.I.; Noh, S.; Cho, J.E.; Jang, M.S.; Kim, S.; Song, J.H.; Kim, H.R.; et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of 2-Aminoquinazolin-4(3H)-One Derivatives as Potential SARS-CoV-2 and MERS-CoV Treatments. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2021**, *39*, 127885, doi:10.1016/j.bmcl.2021.127885.
22. Singh, P.; Paul, K.; Holzer, W. Synthesis of Pyrazole-Based Hybrid Molecules: Search for Potent Multidrug Resistance Modulators. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14*, 5061–5071, doi:10.1016/j.bmc.2006.02.046.
23. Bekhit, A.A.; Hassan, A.M.M.; Abd El Razik, H.A.; El-Miligy, M.M.M.; El-Agroudy, E.J.; Bekhit, A.E.D.A. New Heterocyclic Hybrids of Pyrazole and Its Bioisosteres: Design, Synthesis and Biological Evaluation as Dual Acting Antimalarial-Antileishmanial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 30–44, doi:10.1016/j.ejmech.2015.02.038.
24. Dai, H.; Huang, M.; Qian, J.; Liu, J.; Meng, C.; Li, Y.; Ming, G.; Zhang, T.; Wang, S.; Shi, Y.; et al. Excellent Antitumor and Antimetastatic Activities Based on Novel Coumarin/Pyrazole Oxime Hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 470–479, doi:10.1016/j.ejmech.2019.01.070.
25. Gonçalves, I.L.; Machado das Neves, G.; Porto Kagami, L.; Eifler-Lima, V.L.; Merlo, A.A. Discovery, Development, Chemical Diversity and Design of Isoxazoline-Based Insecticides. *Bioorganic Med. Chem.* **2021**, *30*, 115934, doi:10.1016/j.bmc.2020.115934.
26. Asahi, M.; Kobayashi, M.; Kagami, T.; Nakahira, K.; Furukawa, Y.; Ozoe, Y. Fluxametamide: A Novel Isoxazoline Insecticide That Acts via Distinctive Antagonism of Insect Ligand-Gated Chloride Channels. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2018**, *151*, 67–72, doi:10.1016/j.pestbp.2018.02.002.
27. Romero-Núñez, C.; Bautista-Gómez, L.G.; Sheinberg, G.; Martín-Cordero, A.; Flores-Ortega, A.; Heredia-Cárdenas, R. Efficacy of Afoxolaner plus Milbemycin Oxime and Afoxolaner Alone as Treatment for Sarcoptic Mange in Naturally Infested Dogs. *Can. J. Vet. Res.* **2020**, *84*, 212–216.
28. Kreuzer, J.; Bach, N.C.; Forler, D.; Sieber, S.A. Target Discovery of Acivicin in Cancer Cells Elucidates Its Mechanism of Growth Inhibition. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 237–245, doi:10.1039/c4sc02339k.
29. Filali, I.; Bouajila, J.; Znati, M.; Bousejra-El Garah, F.; Ben Jannet, H. Synthesis of New Isoxazoline Derivatives from Harmine and Evaluation of Their Anti-Alzheimer,

Anti-Cancer and Anti-Inflammatory Activities. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2015**, *30*, 371–376, doi:10.3109/14756366.2014.940932.

30. Alshamari, A.; Al-Qudah, M.; Hamadeh, F.; Al-Momani, L.; Abu-Orabi, S. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidant Activities of 2-Isoxazoline Derivatives. *Molecules* **2020**, *25*, 4271, doi:doi:10.3390/molecules25184271.
31. Chalkha, M.; Moussaoui, A. El; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Bouzina, A.; Almalki, F.A.; Saghrouchni, H.; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; et al. Crystallographic Study, Biological Evaluation and DFT/POM/Docking Analyses of Pyrazole Linked Amide Conjugates: Identification of Antimicrobial and Antitumor Pharmacophore Sites. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1252*, 131818, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131818.
32. Chalkha, M.; Akhazzane, M.; Moussaid, F.Z.; Daoui, O.; Nakkabi, A.; Bakhouch, M.; Chtita, S.; Elkhattabi, S.; Iraqi Housseini, A.; El Yazidi, M. Design, Synthesis, Characterization, in Vitro Screening, Molecular Docking, 3D-QSAR, and ADME-Tox Investigations of Novel Pyrazole Derivatives as Antimicrobial Agents. *New J. Chem.* **2022**, *46*, 2747–2760, doi:10.1039/d1nj05621b.
33. Chalkha, M.; Nour, H.; Chebbac, K.; Nakkabi, A.; Bahsis, L.; Bakhouch, M.; Akhazzane, M.; Bourass, M.; Chtita, S.; A. Bin Jardan, Y.; et al. Synthesis, Characterization, DFT Mechanistic Study, Antimicrobial Activity, Molecular Modeling, and ADMET Properties of Novel Pyrazole-Isoxazoline Hybrids. *ACS Omega* **2022**, *7*, 46731–46744, doi:10.1021/acsomega.2c05788.
34. Chalkha, M.; Nakkabi, A.; Hadda, T. Ben; Berredjem, M.; Moussaoui, A. El; Bakhouch, M.; Saadi, M.; Ammari, L. El; Almalki, F.A.; Laaroussi, H.; et al. Crystallographic Study, Biological Assessment and POM/Docking Studies of Pyrazoles-Sulfonamide Hybrids (PSH): Identification of a Combined Antibacterial/Antiviral Pharmacophore Sites Leading to in-Silico Screening the Anti-Covid-19 Activity. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1267*, 133605, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133605.
35. Tibon, N.S.; Ng, C.H.; Cheong, S.L. Current Progress in Antimalarial Pharmacotherapy and Multi-Target Drug Discovery. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *188*, 111983, doi:10.1016/j.ejmech.2019.111983.
36. Agarwal, D.; Gupta, R.D.; Awasthi, S.K. Are Antimalarial Hybrid Molecules a Close Reality or a Distant Dream? *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, 1–12, doi:10.1128/AAC.00249-17.
37. Agarwal, D.; Sharma, M.; Dixit, S.K.; Dutta, R.K.; Singh, A.K.; Gupta, R.D.; Awasthi, S.K. In Vitro Synergistic Effect of Fluoroquinolone Analogues in Combination with Artemisinin against Plasmodium Falciparum; Their Antiplasmodial Action in Rodent Malaria Model. *Malar. J.* **2015**, *14*, doi:10.1186/s12936-015-0561-2.
38. Dongamanti, A.; Rangu, K.; Srinivas, G.; Velagapuri, H.R. Microwave-Assisted Synthesis of New Pyrazole Derivatives Bearing 1,2,3-Triazole Scaffold as Potential Antimicrobial Agents. *J. Serbian Chem. Soc.* **2017**, *82*, 357–366, doi:10.2298/JSC160205016A.
39. Madhavilatha, B.; Fatima, N.; Sabitha, G.; Reddy, B.V.S.; Yadav, J.S.; Bhattacharjee, D.; Jain, N. Synthesis of 1,2,3-Triazole and Isoxazole-Linked Pyrazole Hybrids and Their Cytotoxic Activity. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 1753–1763, doi:10.1007/s00044-017-1884-z.
40. Sankar, B.; Harikrishnan, M.; Raja, R.; Sadhasivam, V.; Malini, N.; Murugesan, S.; Siva, A. Design of a Simple and Efficient Synthesis for Bioactive Novel Pyrazolyl-Isoxazoline Hybrids. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 10458–10467, doi:10.1039/c9nj01532a.
41. Marella, A.; Shaquiquzzaman, M.; Akhter, M.; Verma, G.; Alam, M.M. Novel

Pyrazole-Pyrazoline Hybrids Endowed with Thioamide as Antimalarial Agents: Their Synthesis and 3D-QSAR Studies. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2015**, *30*, 597–606, doi:10.3109/14756366.2014.958081.

42. Ribeiro, C.J.A.; Amaral, J.D.; Rodrigues, C.M.P.; Moreira, R.; Santos, M.M.M. Synthesis and Evaluation of Spiroisoxazoline Oxindoles as Anticancer Agents. *Bioorganic Med. Chem.* **2014**, *22*, 577–584, doi:10.1016/j.bmc.2013.10.048.
43. Liu, K.-C.; Shelton, B.R.; Howe, R.K. A Particularly Convenient Preparation of Benzohydroximinoyl Chlorides (Nitrile Oxide Precursors). *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3916–3918, doi:10.1021/jo01307a039.
44. Groundwater, P.W.; Nyerges, M.; Fejes, I.; Hibbs, D.E.; Bendell, D.; Anderson, R.J.; McKillop, A.; Sharif, T.; Zhang, W. Preparation and Reactivity of Some Stable Nitrile Oxides and Nitrones. *Arkivoc* **2000**, *2000*, 684–697, doi:10.3998/ark.5550190.0001.503.
45. Talha, A.; Favreau, C.; Bourgoin, M.; Robert, G.; Auberger, P.; EL Ammari, L.; Saadi, M.; Benhida, R.; Martin, A.R.; Bougrin, K. Ultrasound-Assisted One-Pot Three-Component Synthesis of New Isoxazolines Bearing Sulfonamides and Their Evaluation against Hematological Malignancies. *Ultrason. Sonochem.* **2021**, *78*, 105748, doi:10.1016/j.ultsonch.2021.105748.
46. Lobo, M.M.; Viau, C.M.; Dos Santos, J.M.; Bonacorso, H.G.; Martins, M.A.P.; Amaral, S.S.; Saffi, J.; Zanatta, N. Synthesis and Cytotoxic Activity Evaluation of Some Novel 1-(3-(Aryl-4,5-Dihydroisoxazol-5-Yl)Methyl)-4-Trihalomethyl-1H-Pyrimidin-2-Ones in Human Cancer Cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 836–842, doi:10.1016/j.ejmech.2015.06.040.
47. Vinay Kumar, K.S.; Lingaraju, G.S.; Bommegowda, Y.K.; Vinayaka, A.C.; Bhat, P.; Pradeepa Kumara, C.S.; Rangappa, K.S.; Gowda, D.C.; Sadashiva, M.P. Synthesis, Antimalarial Activity, and Target Binding of Dibenzazepine-Tethered Isoxazolines. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 90408–90421, doi:10.1039/c5ra17926b.
48. Deepthi, A.; Acharjee, N.; Sruthi, S.L.; Meenakshy, C.B. An Overview of Nitrile Imine Based [3+2] Cycloadditions over Half a Decade. *Tetrahedron* **2022**, *116*, 132812, doi:10.1016/j.tet.2022.132812.
49. Ravindar, L.; Bukhari, S.N.A.; Rakesh, K.P.; Manukumar, H.M.; Vivek, H.K.; Mallesha, N.; Xie, Z.Z.; Qin, H.L. Aryl Fluorosulfate Analogues as Potent Antimicrobial Agents: SAR, Cytotoxicity and Docking Studies. *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 107–118, doi:10.1016/j.bioorg.2018.08.001.
50. Esfahani, S.N.; Damavandi, M.S.; Sadeghi, P.; Nazifi, Z.; Salari-Jazi, A.; Massah, A.R. Synthesis of Some Novel Coumarin Isoxazol Sulfonamide Hybrid Compounds, 3D-QSAR Studies, and Antibacterial Evaluation. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1–15, doi:10.1038/s41598-021-99618-w.
51. Barmak, A.; Niknam, K.; Mohebbi, G.; Pournabi, H. Antibacterial Studies of Hydroxyspiro[Indoline-3,9-Xanthene]Trione against Spiro[Indoline3,9-Xanthene]Trione and Their Use as Acetyl and Butyrylcholinesterase Inhibitors. *Microb. Pathog.* **2019**, *130*, 95–99, doi:10.1016/j.micpath.2019.03.002.
52. Chebbac, K.; Ghneim, H.K.; El Moussaoui, A.; Bourhia, M.; El Barnossi, A.; Ouaritini, Z.B.; Salamatullah, A.M.; Alzahrani, A.; Aboul-Soud, M.A.M.; Giesy, J.P.; et al. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chemically-Characterized Essential Oil from Artemisia Aragonensis Lam. against Drug-Resistant Microbes. *Molecules* **2022**, *27*, 1136, doi:10.3390/molecules27031136.
53. Punia, S.; Verma, V.; Kumar, D.; Kumar, A.; Deswal, L. Facile Synthesis, Antimicrobial Evaluation and Molecular Docking Studies of Pyrazole-Imidazole-Triazole Hybrids. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1223*, 1–11,

doi:10.1016/j.molstruc.2020.129216.

54. Wang, X.; Duan, W.; Lin, G.; Li, B.; Chen, M.; Lei, F. Synthesis, 3D-QSAR and Molecular Docking Study of Nopol-Based 1,2,4-Triazole-Thioether Compounds as Potential Antifungal Agents. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 757584, doi:10.3389/fchem.2021.757584.
55. Desai, N.C.; Pandya, D.D.; Jadeja, D.J.; Panda, S.K.; Rana, M.K. Design, Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Docking Study of Novel Hybrid of Pyrazole and Benzimidazoles. *Chem. Data Collect.* **2021**, *33*, 100703, doi:10.1016/j.cdc.2021.100703.
56. Moussaoui, O.; Byadi, S.; Eddine Hachim, M.; Sghyar, R.; Bahsis, L.; Moslova, K.; Aboulmouhajir, A.; Rodi, Y.K.; Podlipnik, Č.; Hadrami, E.M. EL; et al. Selective Synthesis of Novel Quinolones-Amino Esters as Potential Antibacterial and Antifungal Agents: Experimental, Mechanistic Study, Docking and Molecular Dynamic Simulations. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1241*, 130652, doi:10.1016/j.molstruc.2021.130652.
57. Raimondi, M.V.; Presentato, A.; Li Petri, G.; Buttacavoli, M.; Ribaudo, A.; De Caro, V.; Alduina, R.; Cancemi, P. New Synthetic Nitro-Pyrrolomycins as Promising Antibacterial and Anticancer Agents. *Antibiotics* **2020**, *9*, 292, doi:10.3390/antibiotics9060292.
58. El-Zemity, S.R.; Badawy, M.E.I.; Esmaiel, K.E.E.; Badr, M.M. Synthesis, Antioxidant, Antimicrobial, and Molecular Docking Studies of Some N-Cinnamyl Phenylacetamide and N-(3,7-Dimethylocta-2,6-Dien-1-Yl) Phenylacetamide Derivatives. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1265*, 133411, doi:10.1016/j.molstruc.2022.133411.
59. Klahn, P.; Brönstrup, M. Bifunctional Antimicrobial Conjugates and Hybrid Antimicrobials. *Nat. Prod. Rep.* **2017**, *34*, 832–885, doi:10.1039/c7np00006e.

Conclusion générale et perspectives

Le présent travail est effectué au sien de laboratoire d'ingénierie des matériaux organométalliques, moléculaires et de l'environnement (LIMOME). L'objectif recherché à travers cette thèse s'intègre dans le cadre de la continuité et du développement des axes de recherches développés dans notre laboratoire relatif à la mise au point de méthodologies adéquates et appropriées dans la synthèse de composés hétérocycliques originaux à visée thérapeutique, et à l'évaluation de leur activité biologique.

Nous avons procédé en premier lieu à la préparation d'un certain nombre de dérivés de l'aza-aurone (les 2-arylidène-indolin-3(*2H*)-ones) en utilisant une stratégie de synthèse constituée de trois étapes : une substitution nucléophile, suivie d'une cyclisation intramoléculaire dite de Rôssing et une condensation de Knoevenagel avec les aldéhydes aromatiques sous courant d'azote. Les méthodes d'analyses utilisées et les données de la littérature montrent que les aza-aurones synthétisées adoptent une configuration Z.

Vu la richesse exceptionnelle de la chimie des aza-aurones, en particulier leur utilisation comme excellents précurseurs de synthèse de plusieurs composés spirohétérocycliques, et leurs applications dans le domaine biologique, nous avons étudié dans un second lieu la réactivité des dérivés de l'aza-aurone préparées vis-à-vis des dipoles-1,3 de type nitrilimines. La réaction de cycloaddition dipolaire-1,3 conduit d'une façon hautement régiosélective à de nouveaux spiropyrazoline-oxindoles avec des bons rendements. Nous avons également étudié les activités antimicrobienne et antioxydante *in-vitro* de produits spiraniques préparés dont certains d'entre eux ont donné une capacité inhibitrice significative contre les souches testées et de piégeage des radicaux libres.

Ensuite, nous avons soumis les cycloadduits spiranniques obtenus à l'action de l'acide chlorhydrique à chaud dans un milieu alcoolique en vue d'étudier leur stabilité dans le milieu agressif. Nous avons remarqué que les spiropyrazoline-indolinones se transforment en leur analogues pyrazoliques portant un motif 2-aminobenzoyl, et cela après ouverture du cycle indolin-3(2*H*)-one au niveau de l'atome d'azote. Les produits d'ouverture ainsi obtenus ont été engagés dans des réactions de la N-alkylation, de N-acylation et de N- sulfonation pour préparer une chimiothèque de nouveaux dérivés du pyrazole, et cela dans le but d'étudier l'effet de ces modifications sur l'activité biologique. Tous les composés pyrazoliques synthétisés ont subi des tests biologiques afin de mettre en exergue leurs propriétés antimicrobienne et antioxydante. Les résultats obtenus montrent que la fonctionnalisation du pyrazole permet d'améliorer remarquablement l'activité biologique.

Dans le prolongement de nos études rapportées dans la stratégie de synthèse de composés hétérocycliques à visée thérapeutique, nous avons envisagé aussi de synthétiser de nouveaux systèmes hybrides par le couplage du pyrazole avec d'autres entités à savoir la pyrazoline et l'isoxazoline afin d'améliorer l'activité biologique. Les nouveaux composés hybrides pyrazole-isoxazolines ont été testés pour leur activité antimicrobienne. Les résultats obtenus montrent que l'introduction de motif isoxazoline conduit à des activités antimicrobiennes intéressantes que celles obtenus avec des pyrazoles fonctionnalisés.

Les structures de tous les produits synthétisés ont été établies par les méthodes spectroscopiques usuelles (IR, RMN-^{1}H et RMN-^{13}C) et par la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS). Certains d'entre eux ont été analysés par d'autres analyses complémentaires à savoir l'analyse élémentaire et la diffraction des rayons X sur monocristal pour corroborer davantage les structures proposées. Les données obtenues sont en parfait accord avec les structures proposées.

L'objectif de notre travail au départ était de concevoir et de synthétiser plusieurs familles de composés hétérocycliques azotés à bases du pharmacophore pyrazole. Les différentes évaluations biologiques réalisées et l'étude de la relation structure-activité nous a permis de conclure que les modifications structurales effectuées sur la structure de pyrazole ont donné des résultats prometteurs. Ce qui ouvre de nombreuses perspectives tant sur le plan de la synthèse et propriétés chimiques que sur le volet propriétés biologiques.

L'ensemble des résultats très encourageants obtenus laissent entrevoir de nombreuses perspectives. Nous envisageons de poursuivre ce travail d'une part par l'étude de la toxicité des composés synthétisés et d'évaluer leurs propriétés biologiques sur d'autres cibles biologiques, ainsi que l'activité inhibitrice de la corrosion. Sur le plan chimique, ces composés contiennent plusieurs sites de coordination capable de complexer des métaux de transition pour synthétiser de nouveaux matériaux hybrides.

D'autre part, nous envisagerons d'effectuer d'autres modifications et d'insérer d'autres motifs hétérocycliques comme le tétrazole et le triazole et autres et de tester leur activité biologique.