

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Mohamed Khider-Biskra**



**Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Matière**

## **THESE**

Présentée en vue de l'obtention

**Du diplôme de Doctorat en Sciences**

Option : Chimie Organique

Filière : Chimie

Présentée Par

**Rébat Moukrere BACHAR**

*Thème*

Synthèses et caractérisations de structures hétérocycliques  
obtenues à partir de l'ABL et de DHA  
et évaluation de leur activité anti-tuberculeuse

Soutenue le 01 Juillet 2019

Devant le jury composé de :

Mr. A. MEGHEZZI

Mr. M. FODILI

Mr. M. BENALIA

Mme.N.NEBBACHE

Mme.N.BENCHIKHA

Pr. Université de Biskra,

Pr. Université de Djelfa,

Pr. Université de Laghouat,

MCA. Université de Biskra,

MCA. Université d'El Oued,

Président

Directeur de thèse

Examineur

Examinatrice

Examinatrice

# Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein du laboratoire de Chimie organique et de substances naturelles Université Ziane Achour de Djelfa.

Je remercie le Professeur Mokhtar FODILI de m'avoir acceptée dans son équipe et de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail de thèse. Je lui suis reconnaissante de ses qualités scientifiques et humaines, de m'avoir fait confiance et d'avoir toujours été à l'écoute durant toutes ces années.

Puisse-t-il trouver dans ce travail le témoignage de ma grande reconnaissance et de mon profond respect.

Je tiens à remercier solennellement M. Ahmed. MEGHEZZI, Professeur à l'Université de Biskra d'avoir accepté de juger ce travail de thèse en sa qualité de président, ainsi que M. Mokhtar BENALIA, Professeur à l'Université de Laghouat, Mme Nadia NEBBACHE, Maître de conférences à l'Université de Biskra et Mme Naima BENCHIKHA, Maître de conférences à l'Université d'El Oued en leur qualité d'examineurs. Je les remercie de m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse et je leur exprime toute ma gratitude pour le temps qu'ils ont consacré à évaluer ce travail.

Mes remerciements vont également aux responsables et au personnel du Département des Sciences de la Matière de la Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Biskra pour leur accueil et leur soutien.

Je ne saurais exprimer suffisamment ma reconnaissance et ma profonde gratitude à Mr. Mohamed AMARI, Professeur à l'USTHB, pour sa gentillesse, son investissement et sa disponibilité. J'ai eu la chance de pouvoir profiter de son vaste savoir, il m'a aidée, corrigée et encouragée depuis le début de mon parcours dans la recherche et tout le long de mon travail de thèse.

Je remercie vivement le Dr. Pascal HOFFMAN, membre du (SPCMIB) Université Paul SABATIER de Toulouse pour son accueil chaleureux, sa collaboration active dans la réalisation de ce travail de thèse, ainsi que l'ensemble des membres de ce laboratoire en particulier Nathalie Saffon-Merceron, Frédéric Rodriguez et Christian Lherbet pour le temps consacré à ce travail.

Je souhaite remercier Beatrice S. Orena et Giorgia Mori, du Département de Biologie et Biotechnologie Lazzaro Spallanzani University of Pavia, Pavia, Italy pour la réalisation des tests biologiques.

J'adresse mes sincères remerciements à M Saad BOUTAIBA, Maître de conférences à l'Université de Ziane Achour, pour son aide et sa disponibilité. Ses conseils et ses orientations m'ont permis de mener à bien la dernière partie de ce manuscrit.

Un grand merci à M. Nadji BELKHEIRI, Maître de conférences à Université Ziane Achour, de Djelfa pour son aide et son soutien.

Je remercie mes amis et collègues de paillasse, Maamar D, Zhor B, Omar B pour leur gentillesse et leur bonne humeur.

Merci à mon mari de m'avoir soutenue et aidée depuis le début.

Mille mercis à ma sœur pour beaucoup mais surtout pour les longues heures d'écoute.

Merci à Djamel et Karim pour leur disponibilité.

Merci à Zakaria, Walid, Wassim, Ihsane, Radhouane et Joumane d'être là.

Je dédie ce travail

A

Ma très douce mère que Dieu la protège et la garde

A

La mémoire de mon très regretté père qui me manque chaque jour un peu plus

- Liste des abréviations
- Liste de tableaux
- Liste des figures

## Introduction générale

### Chapitre 1 : Mise au point bibliographique sur les lactones : 2-acétylbutyrolactone DHA

<b>I-1</b> Mise au point bibliographique sur les lactones.....	01
<b>I-2</b> Présentation de la 2-acétylbutyrolactone.....	06
I-2-1Synthèse de la 2-acétylbutyrolactone.....	09
I-2-2Mise au point bibliographique sur l'intérêt du acétylbutyrolactone en synthèse organique .....	10
I-2-2-1Ouverture du cycle furanique.....	13
I-2-2-2Actions de dérivés thioamide sur la 2-acetylbutyrolactone.....	15
I-2-3Le thiazole.....	16
I-2-3-1Présentation et intérêts du noyau thiazolique.....	16
I-2-3-2Mise au point bibliographique sur la synthèse de thiazoles.....	19
<b>I-3</b> Généralités sur le DHA .....	27
I-3-1Synthèse de l'acide déhydroacétique .....	30
I-3-2Réactivité de l'acide déhydroacétique.....	32
I-3-2-1Réactivité du DHA vis-à-vis des aldéhydes.....	33
I-3-2-2Synthèse d'hétérocycles azotés à quatre chaînons.....	34
I-3-2-3Synthèse d'hétérocycles azotés à cinq chaînons .....	35
I-3-2-4Synthèse d'hétérocycles azotés à six chaînons .....	38
I-3-2-5Synthèse d'hétérocycles azotés à sept chaînons .....	41
I-3-3Action des thioamides et thiocarbamide sur le DHA .....	44
<b>I-4</b> Les travaux de notre laboratoire à partir de l'ABL et du DHA.....	51
Références bibliographiques.....	57

## Chapitre II

### Synthèse de molécules de structure thiazolopyrazolone

#### Introduction

<b>II-1</b> Obtention de la pyrazolone <u>2</u> .....	70
<b>II-2</b> Caractérisation des pyrazolones <u>2</u> .....	71
a.Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H .....	71
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C ;RX.....	72
<b>II-3</b> Mécanisme réactionnel.....	74
<b>II-4</b> Synthèses de structures thiazolopyrazolones .....	76
<b>II-5</b> Caractérisation des thiazolopyrazolones <u>3</u> .....	77
a.Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H .....	77
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C ; RX .....	81
<b>II-6</b> Mécanisme réactionnel.....	84
Conclusion.....	86
Partie expérimentale.....	87

## Chapitre III : Synthèses à partir du DHA

#### Introduction

<b>III-1</b> Le 3-(2-Carbamothioylhydrazino)-5-(4-hydroxy-6-méthyl-2- oxo-pyran-3-yl)-3,4-dihydropyrazole-2-carbothioamide <u>6</u> .....	93
<b>III-1-1</b> Synthèse du cinnamoyle <u>5</u> .....	93
<b>III-1-1-1</b> Caractérisation du composé <u>5</u> :.....	93
a.Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H :.....	94
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C.....	96
<b>III-1-2</b> Synthèse du composé <u>6</u> .....	97
<b>III-1-2-1</b> Caractérisation du composé <u>6</u> :.....	97
a.Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H :.....	97
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C,RX.....	99
<b>III-1-2-2</b> Mécanisme réactionnel.....	103
<b>III-2</b> Le (4E)-4-(2-Ethylsulfanyl-7-méthyl-[1,3,4] thiadiazolo[3,2-a] pyrimidin-5-	

ylidène)-5-méthyl-2-phenyl-pyrazol-3-one <u>9</u> .....	104
III-2-1 Synthèse du composé <u>7</u> .....	104
III-2-2 Synthèse de la pyrazolyl butanedione <u>8</u> .....	105
III-2-2-1Caractérisation du composé <u>8</u> :.....	106
a.Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H :.....	106
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C.....	107
III-2-3 Synthèse du composé <u>9</u> et du composé <u>10</u> .....	108
III-2-3-1..Caractérisation des composés <u>9</u> :.....	110
a. Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H .....	110
b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup> C.....	113
c. Spectrométrie de masse .....	115
d- Analyse cristallographique aux rayons-X.....	116
III -2-3-2Caractérisation du composé <u>10</u> .....	116
a- Caractérisation par RMN <sup>1</sup> H .....	116
b-Charactérisationpar RMN <sup>13</sup> C.....	118
III-2-3- 3. Mécanisme réactionnel.....	120
Conclusion.....	121
Partie expérimentale.....	122

## Chapitre IV Evaluation de l'activité Anti-tuberculeuse

### 1-Mise au point bibliographique

### 2-Résultats et discussions

#### Introduction

<b>IV-1</b> Historique, évolution et incidence .....	135
IV-1-1Incidence de la tuberculose en Algérie .....	137
<b>IV-2</b> Physiopathologie de la tuberculose.....	138
<b>IV-3</b> Les Mycobacterium tuberculosis.....	140
IV.3.1.Présentation.....	140
IV-3-2 Morphologie .....	140
IV-3-3Particularité du genre <i>Mycobacterium</i> .....	141
IV-3-4Paroi mycobactérienne du genre <i>Mycobacterium</i> .....	142
IV-3-5 Acide mycolique.....	143

IV-3-5-1 Biosynthèse des acides mycoliques.....	144
IV-3-5-2L'énoyl-ACP réductase de M. tuberculosis : InhA.....	146
<b>IV-4</b> Le diagnostic bactériologique de la tuberculose.....	146
<b>IV-5</b> Lutte contre la tuberculose .....	148
IV-5-1Le BCG.....	148
IV-5-2 Traitement de la tuberculose.....	148
IV-5-2-1Mode d'actions des anti-tuberculeux .....	149
IV-5-2-2Les anti-tuberculeux.....	149
Isoniazide (INH).....	149
Rifampicine (RMP).....	151
Éthambutol (EMB).....	151
Pyrazinamide (PZA).....	152
La streptomycine.....	153
<b>IV-6</b> Résistance mycobactérienne aux antibiotiques.....	154
IV-6-1Modes de résistances mycobactériennes aux antibiotiques .....	155
IV-6-2 Approche pour contourner la résistance par inhibition directe de l'InhA .....	156
Résultats et discussions.....	159
Références bibliographiques.....	165
<b>Conclusion générale</b> .....	169

## Liste des abréviations

ABL : AcétylButyroLactone	DHA : Acide déhydroacétique
ADN :Acide désoxyribonucléique	DMC : Diméthylcarbonate ((CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> CO)
ARN Acide ribonucléique	DMF : diméthyl formamide
Ac : Groupement Acétyle (CH <sub>3</sub> CO)-	DMF-DMA: <i>N,N</i> -diméthylformamide-diméthylacétal (CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )
AcO : Groupement Acétate (CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> )-	DMSO : Diméthylsulfoxyde ((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)
AcOH, CH <sub>3</sub> COOH :Acide acétique	DDCoA : trans-2- dodécényl-coenzymeA
AcONH <sub>4</sub> :acétate d'ammonium	Et : Groupement éthyle (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> )-
Ar : Groupement Aromatique	EtO : Groupement éthoxy(CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O)-
ArCHO bezaldéhyde	EtOH : Ethanol (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH)
BCGLe bacille de Calmette et Guérin	Et <sub>2</sub> O : Ether diéthylique (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )
BF <sub>3</sub> OET <sub>2</sub> Boron trifluoride éthyl étherate	EtONa :Ethanoate de sodium
BiCl <sub>3</sub> trichlorure de bismuth	FAS : FattyAcidSynthase
Bi(OTf) <sub>3</sub> triflate de bismuth	NaOAc : Acétate de sodium
Bn : Benzyle (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> )	GC : Guanine et Cytosine
BNZ : Benzène (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )	HCN : Cyanure d'hydrogène
Br <sub>2</sub> Dibrome	InhA : Enoyl-[ <i>acylcarrier- protein</i> ] réductase
BTC Bis(trichlorométhyl)carbonate	HX halogénure d'alkyl
CF <sub>3</sub> COOH : acide trifloroacétique.	IBD diacétate d'iodobenzène (IBD)
CHCl <sub>3</sub> :Chloroforme	iPr : Isopropyle ((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH)
CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> : Carbonate de césium	IPTG :mMd' isopropyl-b-D-galactopyranoside
(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> CO: groupe acétyle	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> Carbonate de potassium
CMI :concentrations minimales inhibitrices	KSCN Thiocyanate de potassium de sodium
(COCl) <sub>2</sub> : phosgène	PCl <sub>5</sub> : Pentachlorure de phosphore
CAN : nitrate d'ammonium cérique	Pd(OAc) <sub>2</sub> : Palladium(II) acetate
CFU/ml :cellules souches unipotentes par millilitre	Pd : palladium
DCM : Dichlorométhane (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	PIPES : Acide pipérazine-N,N'-biséthanesulfonique)



katG. :Enzyme catalase peroxydase du <i>M. tuberculosis</i> )	Ph : Groupement phényle
Me : Groupement méthyle (CH <sub>3</sub> )	PhNH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> : Phényl hydrazine
MeNO <sub>2</sub> nitrométhane	pip : Pipéridine
MeO : Groupement méthoxy (CH <sub>3</sub> O)	POCl <sub>3</sub> : Oxyde de trichlorure de phosphate
MeOH : méthanol (CH <sub>3</sub> OH)	PPA : Acide polyphosphorique
MeCN : Acétonitrile (CH <sub>3</sub> CN)	Pph <sub>3</sub> : Triphénylphosphine
MeONa :méthoxyde de sodium	SM : spèctrométrie de masse
MO : micro-ondes	SiO <sub>2</sub> : Dioxyde de silicium
MTB : <i>M. tuberculosis</i>	TB : Tuberculose
NaH : Hydrure de sodium	TEA : triéthylamine (NEt <sub>3</sub> )
NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide	THF : Tétrahydrofurane
NADH 'énoyl-[ <i>acyl-carrier-protein</i> ] réductase	TMG : 1,1,3,3-tétraméthylguanidine
NaOH Hydroxyde de sodium	TMS : Tétraméthylsilane (Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> )
NaOAc : Acétate de sodium	THF : Tétrahydrofurane
MDR : Souches multirésistantes	t-But : tertibutyle (C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )-
NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> : Hydrazine	VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
NH <sub>3</sub> : Ammoniac	XDR : Souches ultra résistantes
NH <sub>2</sub> CSNHNH <sub>2</sub> :Thiosemicarbazide	ZnCl <sub>2</sub> :Dichlorure de zinc
NH <sub>2</sub> CSNH <sub>2</sub> : Thioury	
Nu- : Nucléophile	
Nb : nombre	
n-But : n-Butanol (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> OH)	
o-PDA : Orthophénylènediamine	
OMS : organisation mondiale de la santé	
OADC : oléique-albumine-dextrose-catalase	

Symboles couramment utilisés

$\Delta$  : Chauffage

$\delta$  : déplacement chimique

$^{\circ}\text{C}$  : Température en degré Celsius

J : Constante de couplage

DRX : diffraction aux rayons X

E<sup>+</sup> : Electrophile

éq : Equivalent

IE : impact électronique

FAB : Ionisation par Bombardement des  
Atomes Accélérés (Fast Atom Bombardment )

L : ligand

M : Molaire (concentration en moles par litre)

m/e : masse/charge

Pf : point de fusion

ppm : Partie par million

Rdt : Rendement

RMN<sup>1</sup>H: Résonance Magnétique Nucléaire  
du Proton

RMN<sup>13</sup>C : Résonance Magnétique  
Nucléaire du Carbone

T. Amb : Température Ambiante

## Liste des tableaux

Tableau I- 1 : Exemples de $\gamma$ -butyrolactones naturelles.....	3
Tableau I- 2 : Exemples de 2- pyrones naturelles.....	5
Tableau II-1 : Propriétés physico-chimiques du dérivé <u>2</u> .....	71
Tableau II-2 : Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>2</u> .....	72
Tableau II- 3 : Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ du dérivé <u>2</u> .....	73
TableauII-4: Propriétés physico-chimiques des dérivés <u>3</u> .....	76
Tableau II-5 : Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ des dérivés <u>3</u> .....	80
Tableau II-6 : Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ des dérivés <u>3</u> .....	82
TableauIII-1-1 : Propriétés physico-chimiques du dérivé <u>5</u> .....	94
TableauIII-1-2 : Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>5</u> .....	95
Tableau III-1-4 : Propriétés physico-chimiques du dérivé <u>6</u> .....	97
TableauIII-1-5 : Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>6</u> .....	98
TableauIII-1-6: Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ du dérivé <u>6</u> .....	101
TableauIII-2-1 : Propriétés physico-chimiques du dérivé <u>7</u> .....	105
Tableau III-2-2 : Propriétés physico-chimiques du dérivé <u>8</u> .....	105
TableauIII-2-3 : Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>8</u> .....	106
Tableau III-2-4: Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>8</u> .....	108
TableauIII-2-5 : Propriétés physico-chimiques des dérivés <u>9</u> et <u>10</u> .....	109
TableauIII-2-6: Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ des dérivés <u>9</u> .....	112
TableauIII-2- 7: Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ des dérivés <u>9</u> .....	114
TableauIII-2- 8: Caractéristiques spectrales RMN $^1\text{H}$ du dérivé <u>10</u> .....	117
TableauIII-2-9: Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ à du dérivé <u>10</u> .....	119
Tableau IV- 1Composés synthétisés testés comme agents inhibiteurs de la souche M. de tuberculose H37Rv et activités biologiques contre l'enzyme InhA.....	160

## Liste des figures

FigureI-1 la cytovaricine.....	1
Figure I-2 la gonioheptoïde A et B.....	2
FigureI- 3 lactone à cinq chaînons.....	2
FigureI-4 2-pyrone , l'acide triacétique lactone , l'acide tétraacétique lactone.....	4
Figure I-5 la 2-acétylbutyrolactone.....	6
Figure I-6 Resperidone.....	6
Figure I-7 forme céto et énol de la 2-acétylbutyrolactone.....	7
Figure I-8 l' $\alpha$ -acétyl- $\gamma$ -butyrolactone l' $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone.....	8
FigureI-9 Le fragment $\alpha$ -méthylène-butylolactone.....	8
Figure I-10 Dérivés de l'acétylbutyrolactone à activité spermicide.....	13
Figure I-11 Condensation des dérivés de l'hydrazine sur l'acétylbutyrolactone.....	13
Figure I-12 Le thiazole.....	16
Figure I-13 forme limite du thiole .....	17
Figure I-14 Acide déshydroacétique 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one.....	27
Figure I-15 le DHA comme anti-microbien.....	27
Figure I-16 le déshydroacétate.....	27
Figure I-17 Pharmacophores potentiel obtenus à partir du DHA .....	28
Figure I-18 Pharmacophores reconnus obtenus à partir du DHA.....	29
FigureI-19 formes limites du DHA.....	30
Figure II- 1 Dérivé <b>2</b> RMN $^1\text{H}$ .....	72
Figure II-2 Dérivé <b>2</b> RMN $^{13}\text{C}$ .....	72
Figure II-3 Dérivé <b>3a</b> RMN $^1\text{H}$ .....	77
Figure II-4 Dérivé <b>3b</b> RMN $^1\text{H}$ .....	78
Figure II-5 Caractéristiques spectrales RMN $^{13}\text{C}$ de <b>3a</b> et <b>3b</b> .....	81
Figure III-1 Dérivé <b>5</b> RMN $^1\text{H}$ .....	94

Figure III-2 Dérivé <b>5</b> RMN <sup>13</sup> C .....	95
FigureIII- 3 Dérivé <b>6</b> RMN <sup>1</sup> H.....	98
Figure III-4 Dérivé <b>6</b> RMN <sup>13</sup> C.....	100
Figure III-5 RMN <sup>1</sup> H du composé <b>8</b> sous sa forme di cétonique.....	106
Figure III-6 RMN <sup>13</sup> C du composé <b>8</b> sous sa forme di cétonique.....	107
Figure III-7 Dérivé <b>9c</b> RMN <sup>1</sup> H.....	110
Figure III-8 Dérivé <b>9c</b> RMN <sup>13</sup> C.....	113
Figure III-9 Dérivé <b>10</b> RMN <sup>1</sup> H.....	118
Figure III-10 Composé <b>10</b> .....	118
Figure VI-1Évolution du taux de la tuberculose en Algerie (1962-2012).....	138
FigureIV-2 Histoire naturelle de la tuberculose et immunité antituberculeuse.....	139
FigureIV-3 Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique .....	140
Figure VI-4 A. Colonies de Mycobacterium tuberculosis,.....	141
Figure IV-5 structure du motif mycolique.....	144
Figure IV-6 structure des acides mycoliques.....	144
Figure IV-7 Rifampicine (RMP).....	151
Figure IV-8 Éthambutol (EMB).....	152
Figure IV-9 Pyrazinamide (PZA).....	152
Figure IV-10 La streptomycine.....	153
Fig IV-11les anti-tuberculeux de deuxième ligne les plus couramment utilisés.....	154
Figure IV-12 inhibiteurs montrants de bonnes capacités contre InhA.....	158

# Introduction générale

### **Introduction générale**

Environ trois millions<sup>1</sup> de composés enregistrés jusqu'ici dans les résumés chimiques sont hétérocycliques. Ils constituent la famille de composés organiques la plus vaste et la plus variée. De nombreux aspects plus généraux de la chimie hétérocyclique sont reconnus comme des disciplines d'importance générale qui touchent presque tous les aspects de la chimie organique, de la chimie médicinale et de la biochimie.

La synthèse de composés hétérocycliques répondant à un besoin thérapeutique est l'axe principal des travaux de notre équipe de recherche « synthèse des composés hétérocycliques à activité biologique » au sein du laboratoire COSNa de l'université Ziane Achour de Djelfa. Dans ce contexte, la démarche de synthèse adoptée pour mon travail de thèse de doctorat est l'élaboration de séries de composés répondant à notre préoccupation, qui est d'obtenir des dérivés dont les analogues structuraux sont doués d'activités biologiques. En effet, certaines structures pyrazoliques analogues sont déjà connues comme anti tuberculeux potentiels<sup>2</sup>.

Dans un esprit de continuité, nous avons utilisé la 2-acétylbutyrolactone et l'acide déhydroacétique, deux lactones peu onéreuses déjà utilisées dans nos travaux antérieurs, comme produit de départ. La 2-acétylbutyrolactone intervient dans la synthèse de molécules biologiquement actives, telles que les anti-inflammatoires, les analgésiques et les antipyrétiques<sup>3</sup>, de même le DHA est couramment utilisé comme agent de conservation, antimicrobien ou encore antifongique. Il est également utilisé comme une molécule de départ polyvalente pour la synthèse de nombreux pharmacophores avec une variété d'activités<sup>4</sup>.

L'un des grands soucis de la chimie médicinale actuelle est de faire face au nombre important de cas de résistance aux antibiotiques. Car malgré l'arsenal thérapeutique existant, beaucoup de patients continuent de succomber suite à des maladies dont les remèdes sont disponibles depuis près d'un siècle.

La Tuberculose (TB), est une maladie infectieuse qui reste un problème de santé mondial majeur, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). En 2016, il a été estimé que 10,4 millions de personnes étaient touchées par la tuberculose et 1,4 millions de personnes sont mortes de la maladie, avec 0,4 million de décès de plus chez les personnes

## Introduction générale

séropositives. Faire face aux souches multi résistantes (MDR) avec des résistances aux antibiotiques comme l'isoniazide, la rifampicine et les souches ultra résistantes (XDR) de la tuberculose résistantes au fluoroquinolone, kanamicyne, et capréomycine reste un défi majeur du traitement contre la tuberculose .

Dans cette étude, une série de nouveaux composés de type thiazole portant un résidu pyrazolique préparé à partir de 2-acétylbutyrolactone et d'autres séries de structures condensées thiazolepyrimidinepyrazole, pyrazoles et cinamoyles obtenues à partir du DHA ont été synthétisées, caractérisés et ont fait l'objet d'une interprétation mécanistique puis soumis à l'évaluation de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) contre la souche la plus virulente du *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Ils ont ensuite été évalués comme inhibiteurs directs de l'enzyme InhA une enzyme impliquée dans la synthèse de la paroi cellulaire mycobactérienne qui est une cible privilégiée de manière à contourner le problème de résistance lié aux antibiotiques classiques.

Ce manuscrit se présente en quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la mise au point bibliographique sur les lactones : la 2-acétylbutyrolactone et l'acide déhydroacétique, leurs modes de synthèse, les principaux composés hétérocycliques obtenus à partir de ces deux produits de départ ainsi qu'un aperçu de ceux qui présentent un intérêt biologique.

Le chapitre deux rapporte la synthèse et la caractérisation par analyses spectrales, d'une nouvelle série de composés de structure thiazole portant un résidu pyrazolique différemment substitués préparée à partir de la 2-acétylbutyrolactone.

Le chapitre trois, présente la synthèse des composés de structures condensées thiazolepyrimidinepyrazole, pyrazoles et cinamoyles obtenus à partir du DHA selon différentes voies et leurs caractérisations par des méthodes d'analyses spectrales.

Le chapitre quatre est réparti en deux parties : la première présente quelques généralités concernant la tuberculose, l'agent étiologique responsable de cette pathologie, la paroi mycobactérienne responsable de la résistance aux agressions chimiques, les traitements actuels disponibles ainsi qu'un aperçu sur les nouvelles molécules en cours d'étude.



Dans la deuxième partie, les résultats biologiques et les propriétés antituberculeuses des composés synthétisés sont présentés. Une évaluation biologique réalisée dans le cadre d'une collaboration avec le Département de Biologie et de Biotechnologie Lazzaro Spallanzani Université de Pavia, Italie et Laboratoire de Synthèse et Physicochimie de Molécules d'Intérêt Biologique (SPCMIB) Université Paul Sabatier Toulouse

Une conclusion sur les avancées réalisées au cours de ce travail terminera ce manuscrit.

-----  
<sup>1</sup>Petel, A. R., Raval, R., "Importance of Heterocycles in Medicinal Chemistry" *LAP LAMBERT Academic Publishing*. **2015**, résumé

<sup>2</sup> a) Ntie-Kang, F., Kannan, S., Wichapong, K., OwonoOwono, L.C., Sippl, W., Megnassan, E., *MolBiosyst.* **2014**, 10, 223–239 (b) Manetti, F., Magnani, M., Castagnolo, D., Passalacqua, L., Botta, M., Corelli, F., Saggi, M., Deidda, D., De Logu, A., *MedChem* **2006**, 1, 973–989

(c) Castagnolo, D., Manetti, F., Radi, M., Bechi, B., Pagano, M., De Logu, A., Meleddu, R., Saggi, M., Botta, M., *Bioorg Med Chem.* **2009**, 17:5716–5721

<sup>3</sup> (a) Rammah, M.M., Othman, M., Rammah, M.B., *J. Soc. Chim. Tunisie.* **2008**, 10, 11-21; (b) Rafiee, E., Azad, A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 2756–2759; (c) Sabry, S.M., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, 40, 1057–1067; (d) Bonacorso, H.G., Martins, D. B., Martins, M.A.P., Zanatta, N., Flores, A.F.C., *Synthesis.* **2005**, 809–813. (e) Sabry, S.M., Abdel-Hady, M., Elsayed, M., Fahmy, O.T., Maher, H.M., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, 32, 409–423, (f) Takayama, K., Iwata, M., Hisamichi, H., Okamoto, Y., Aoki, M., Niwa, A., *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, 50, 1050–1059.

<sup>4</sup> Gupta, G.K., Mittal, A., Kumar, V., *Lett Org Chem.* **2014**, 11, 273–286

# Chapitre I

Mise au point bibliographique sur les lactones :

2-acétylbutyrolactone

Acide déhydroacétique

## Introduction

Les lactones sont très répandues dans les produits naturels et présentent des activités biologiques diverses. Depuis de nombreuses années, ces différentes propriétés sont devenues une cible privilégiée pour la recherche en chimie organique.

De nouvelles voies de préparation sont donc constamment expérimentées pour la synthèse stéréosélective de produits naturels, de composés à nouvelles activités biologiques, ou pour leur utilisation en tant que briques en synthèses.

Dans ce premier chapitre, nous nous sommes intéressés à apporter une mise au point bibliographique sur le DHA et la  $\gamma$ -acétylbutyrolactone, deux lactones à l'origine de notre travail de recherche. Leurs propriétés, les différentes voies de leurs synthèses, ainsi que leur importance en synthèse organique seront exposées.

### I-1 Mise au point bibliographique sur les lactones

Les lactones aussi appelées 4-olides et 5-olides sont des esters particuliers comportant un cycle bi-oxygéné, résultant de la cyclisation d'acides hydroxylés en position 4 ou 5. Les  $\gamma$ - ou  $\delta$ -lactones représentent les deux structures les plus fréquemment identifiées [1].

Suivant la taille du cycle lactone, on distingue trois classes qui sont : les grandes ou macrocycliques (plus de 11 chaînons), les moyennes (de 8 à 11 chaînons) et les petites lactones de tailles inférieure à 8 chaînons

La diversité des lactones est liée aux substituants présents sur les cycles et sur la chaîne latérale, au nombre de doubles liaisons et à la configuration spatiale des molécules (formes énantiomériques R et S) [1]. A l'image de la cytovaricine, une lactone macrocyclique complexe comportant 21 carbones asymétriques, un antibiotique isolé en 1981 d'un champignon [2] puis synthétisé en 1989 par *Evans* [3].

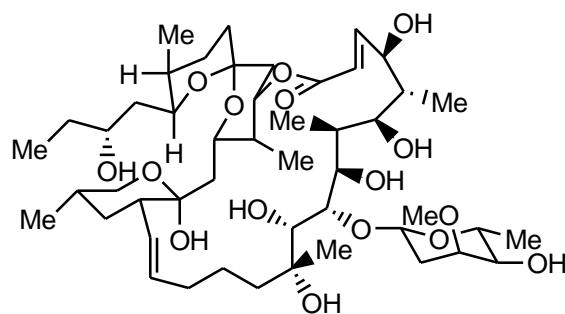


Figure I : 1 La cytovaricine

Les lactones de taille moyenne sont, de même, importantes et occupent une place considérable en synthèse organique depuis l'isolement et la caractérisation de lactones biologiquement actives comme l'illustre les gonioheptolides A et B deux lactones à huit chaînons montrant une activité anticancéreuse [4].

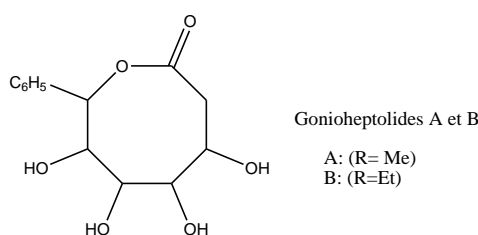


Figure I-2 : Les gonioheptolides A et B

Les lactones de taille moyenne seraient les plus difficiles à synthétiser. La réaction de cyclisation serait défavorisée par des facteurs entropiques [5] certains sont synthétisés par iodolactonisation [6].

Les lactones de taille plus petite ont aussi révélé des activités biologiques intéressantes. La 2-alkényl-3-hydroxy-2,4-diène-4-olidelactone insaturée à cinq chaînons est un exemple assez représentatif, il présente une activité antimicrobienne [7].

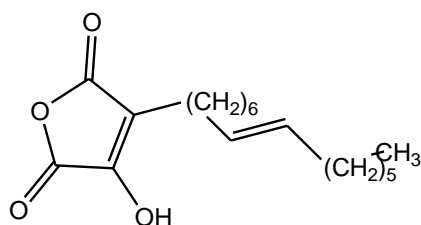
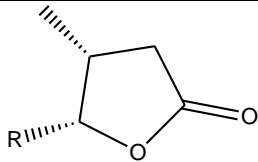
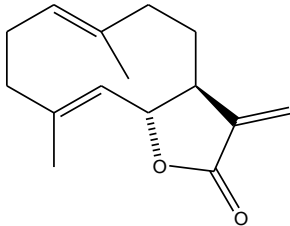
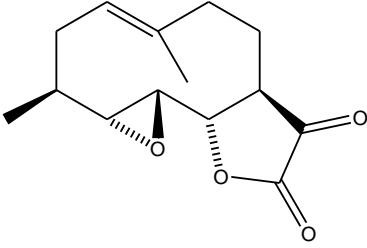


Figure I- 3 : Lactone à cinq chaînons

Les  $\gamma$ -butyrolactones chirales substituées d'origine naturelle représentent environ 10% de tous les produits naturels connus[8] et beaucoup de ces composés présentent une activité biologique significative. Les  $\gamma$ -butyrolactones sont présentes dans une variété importante de fruits et de fleurs, dans les phéromones[9], dans les lignanes[10] ainsi que dans les lichens[11]. Ces composés possèdent des intérêts très divers en tant que substances aromatiques [12], composés antitumoraux [13], antibactériens (traitement de la tuberculose[14], du paludisme[15], antiplaquettaires et vasorelaxants[16], phytosanitaires[17], régulateurs de la croissance des plantes[18], antiulcéreux,[19] cardiotoniques[20] ou contraceptifs

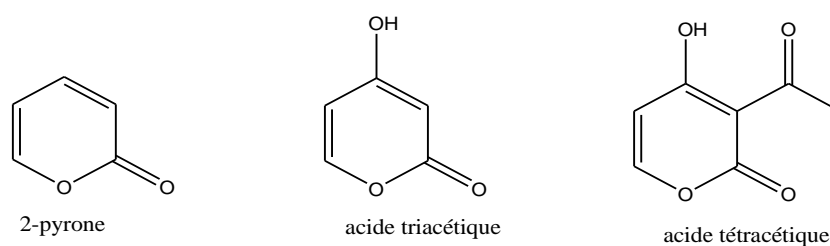
Tableau I-1 : Exemples de  $\gamma$ -butyrolactones naturelles

(-)-cis-whisky lactone	 R = n-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> R = C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	Composés aromatiques présents  à maturation dans de nombreuses  boissons alcoolisées	Synthétisés par <i>T.Ebora</i> 1993[21]
Acostonolide		Agent anti- bactérien  Extrait du laurier	Synthétisé en 1977 par <i>P.Grieco</i> et al [22]
parthénolide		Agent antitumoral,  antibactérien, antifongique,  anti-inflammatoire extrait de la grande camomille	Synthétisé en 2014 selon une <i>R<sup>a</sup> de Barbier</i> par <i>J.Long</i> et al [23]

Le motif  $\gamma$ -butyrolactone est également important en tant que synthon pour la synthèse de molécules à activité pharmaceutique, en particulier pour la synthèse d'antibiotiques, d'analgésiques [24] et de composés antitumoraux [25], ou un substrat de départ pour la synthèse de produits naturels [26], par exemple de lignanes [27].

Pour leur part, les  $\alpha$ -pyrones ou 2-pyrones, lactones insaturées à six chaînons sont présentes dans un grand nombre de produits naturels dans les trois règnes de la vie, comme ils peuvent être obtenus par diverses voies de synthèse chimiques et biologiques [28].

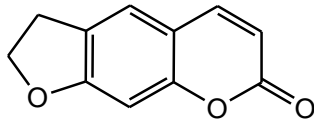
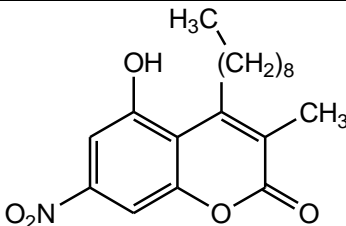
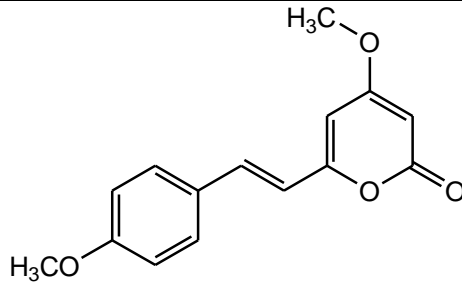
Les plus simples, c'est-à-dire l'acide triacétique lactone [29] et l'acide tétra-acétique lactone [30] (FigureI-4), représentent des motifs largement exploités en synthèse de composés tels que l' $\alpha$ -chymotrypsine, les coumarines, les phéromones et les solanopyrones [31].



FigureI-4 : 2-pyrone, acide triacétique lactone, acide tétracétique lactone

Les activités biologiques des 2-pyrones sont importantes : antimicrobien [30], antitumorales [31,32], analgésique, anticonvulsives, anxiolytique, et hypnotique [33], comme ils peuvent être cytotoxiques [34]. Certains sont aflatoxines produites par plusieurs espèces d'*Aspergillus*. Les composés ci-après donnent un aperçu sur quelques 2-pyrones à activités biologiques.

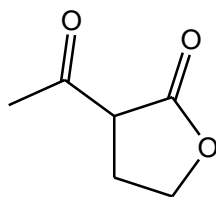
Tableau I-2 : Exemples de 2- pyrones naturelles

Mermesin		Anti-cancéreuse, extrait des fruits de l'Ammielevé[35-36]
Myxocoumarine		Antibactérien, antifongique extrait du <i>Stigmatellaaurantiaca</i> MYX-030 [37]
Yagonin		Activité analgésique, anticonvulsive,anxiolytique, hypnotique extrait du kava [38-33]

## I -2 Présentation de la 2-acétylbutyrolactone

La 2-acétylbutyrolactone ou l' $\alpha$ -acétyl- $\gamma$ -butyrolactone (ABL) [39] ou encore la 4,5-dihydro-3-acétylfuran-2(3H)-one)  $C_6H_8O_3$  **1** est un composé organique dérivé lactonique constitué de six atomes de carbone et trois atomes d'oxygène.

C'est une entité polyfonctionnelle, réunissant à la fois une cétone énolisable, un ester pentacyclique et un protonacide entre ces deux fonctions chimiques. Ce caractère multifonctionnel rend la réactivité chimique de cette molécule intéressante [40].



**1**

Figure I-5 : La 2-acétylbutyrolactone

Le composé **1** peut être défini comme un ester de type  $\beta$ -cétolactone renfermant le motif  $\gamma$ -butyrolactone. Il est présent dans la constitution de quelques produits naturels et il est utilisé dans la préparation de molécules synthétiques [41-43].

Ainsi la 2-acétylbutyrolactone est utilisée comme produit de départ pour la synthèse de la *Risperidone*, un antipsychotique utilisé principalement pour traiter la schizophrénie, le trouble bipolaire et l'irritabilité chez les enfants et les adolescents [44]. Il est vendu sous le nom commercial *Risperdal* par la compagnie pharmaceutique *Janssen*.

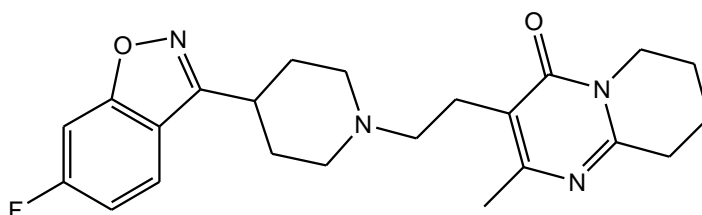


Figure I-6 : *Risperidone*

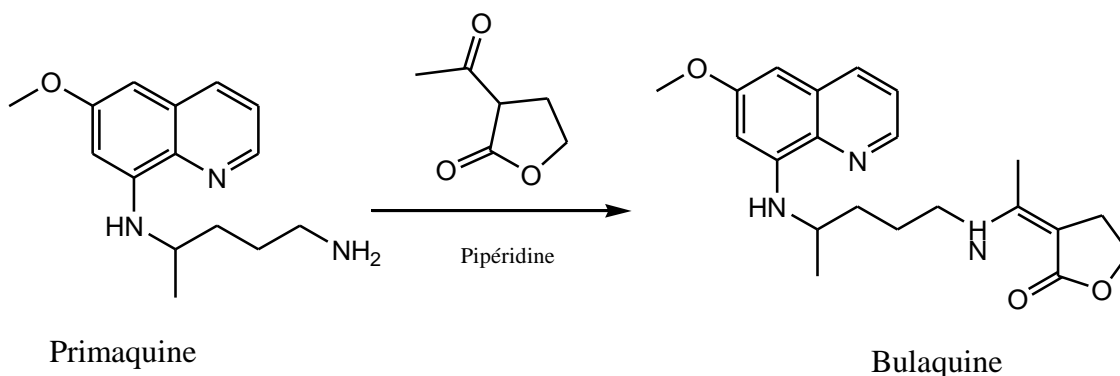


Par ailleurs le Central Drug Research Institute en Inde a mis au point un dérivé de la primaquine dérivé de la 8-aminoquinoline, un antipaludéen. Il s'agit de la Bulaquine

N-(3-éthylidinetetrahydrofuran-2-one)-N-(6-methoxy-8-quinoliny)-1,4-pentanediamine utilisée dans la prévention de la rechute dans le cas du paludisme à *P. vivax* [45].

La Bulaquine est intéressante parce qu'elle présente moins d'effets secondaires en particulier, la méthémoglobinémie et aussi moins d'effet sur les enzymes de défense antioxydantes.

Elle est obtenue par une simple condensation de la 2-acétylbutyrolactone sur la molécule-mère en présence de pipéridine à température ambiante [45].



SchémaI- 1 : Synthèse de la *Bulaquine*

La 2-acétylbutyrolactone existe du point de vue structural en équilibre entre les formes céto et énol du groupement acétyle en position 3. Son spectre RMN<sup>1</sup>H en solution dans le chloroforme deutérié montre clairement la présence de la forme énol par la présence d'une large bande à 15,2 ppm attribuable au groupement OH.

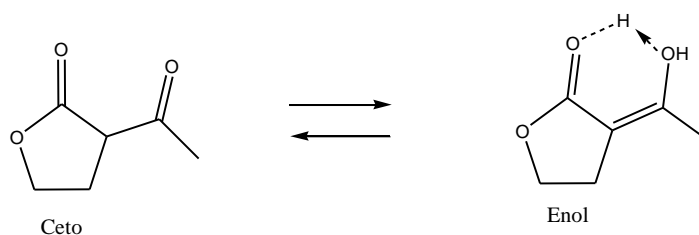


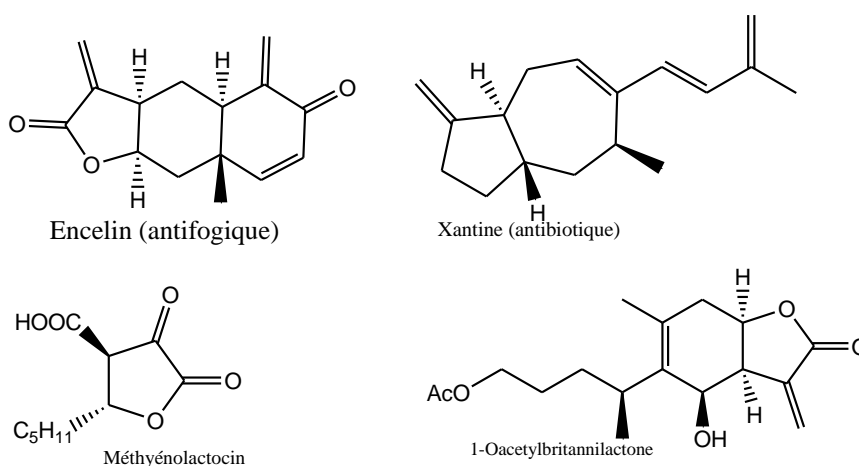
Figure I-7 : Formes céto et énol de la 2-acétylbutyrolactone

Sous certaines conditions, le substrat **1** se présente sous la forme solide qui est une  $\gamma$ -butyrolactone munie d'un groupement acétyle en position  $\alpha$  [46]. Mais, c'est sous sa forme  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone qu'on le retrouve comme constituant dans un certain nombre de produits naturels aux activités biologiques remarquables.



FigureI-8 : L' $\alpha$ -acétyl- $\gamma$ -butyrolactone; l' $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone

Le fragment  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone est connu pour être responsable de diverses activités biologiques. Ces lactones ont un profil biologique impressionnant incluant des antibiotiques forts (par exemple la Xanthatine), des antifongiques (par exemple, l'Encelin), des antitumoreux, des antiviraux, des anti-inflammatoires (Fig.I-9). Ils sont bioactifs en raison de la capacité de leur groupement méthylène en position  $\alpha$  à se lier avec les sites nucléophiles des biomolécules par addition conjugué [47].



FigureI-9 : Le fragment  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone

## I-2-1 Synthèse de la 2-acétylbutyrolactone

La littérature converge vers deux méthodes principales pour la synthèse de la 2-acétylbutyrolactone.

La première utilise de l'oxyde d'éthylène et l'acétoacétate d'éthyle où des protocoles opératoires différents ont été proposés, les plus récents d'entre eux prennent les aspects économiques et environnementaux en considération [48,49].

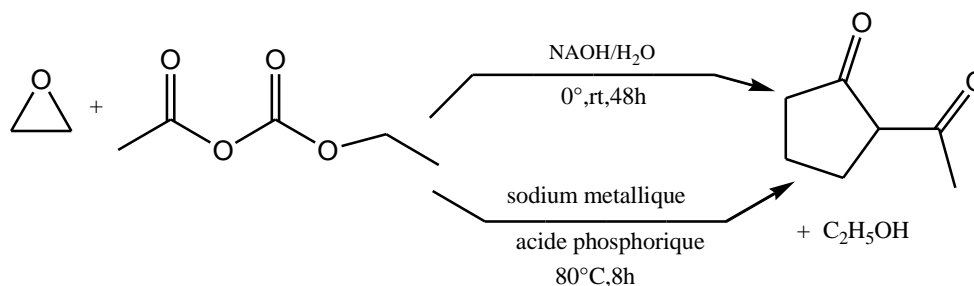
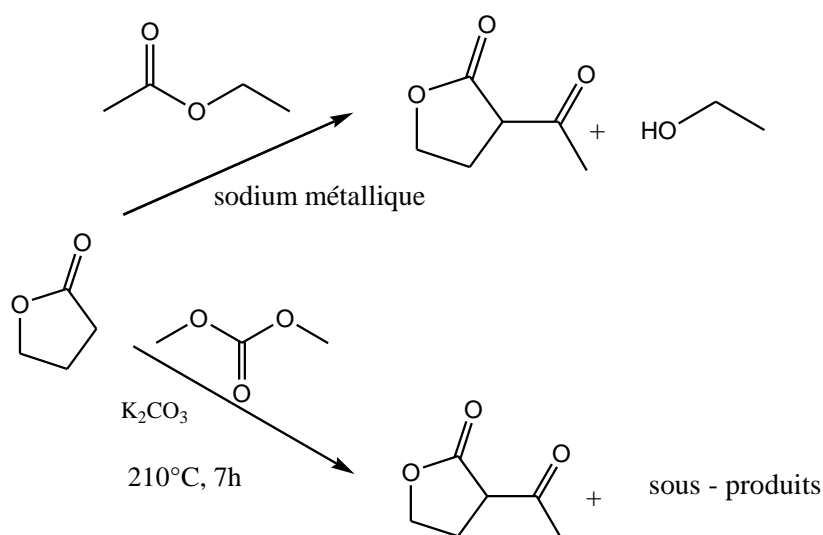


Schéma I-2 Synthèse de la 2-acétylbutyrolactone

V.Semak et al, rapportent pour leur part une seconde voie d'obtention de la 2-acétylbutyrolactone à partir de la  $\gamma$ -butyrolactone, et du diméthylcarbonate en présence du DMC ; le rendement est de l'ordre de 89% ; des sous-produits sont de même isolés [50]. De même la présence de l'EtOAc permet l'accès à l'2-acétylbutyrolactone avec des rendements similaires [51].



sous - produits: méthyl tétrahydro-3-méthyl-2-oxofuran-3-carboxylate,  
3-(méthylcarbonyl)butyl-méthyl carbonate  
et 3-(méthylcarbonyl) méthyl-propyl carbonate

Schéma I-3 : Synthèse de la 2-acétylbutyrolactone selon V.Semak et al.

La synthèse de la 2-acétylbutyrolactone (schéma I-4) à partir de la  $\gamma$ -butyrolactone a même fait l'objet d'un brevet. Selon la réaction suivante réalisée à partir de la  $\gamma$ -butyrolactone et de l'acétate d'alkyle en présence d'un puissant agent de condensation pour obtenir dans un premier temps un énolate, la protonation de ce dernier en présence d'un halogénure d'alkyl aboutit au produit désiré avec un rendement supérieur à 90% [52].

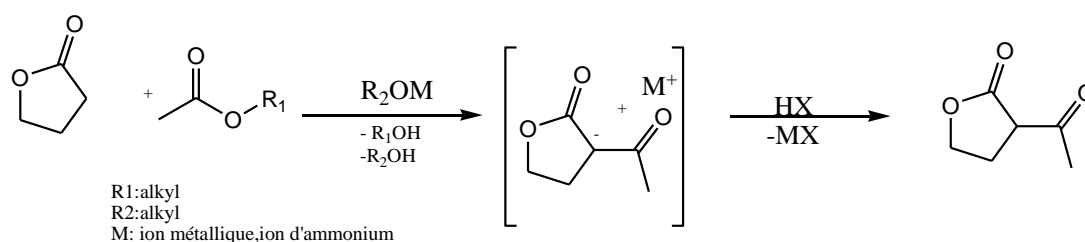


Schéma I- 4 : Synthèse de la 2-acétylbutyrolactone à partir de la  $\gamma$ -butyrolactone

I-2-2 Mise au point bibliographique sur l'intérêt de la 2-acétylbutyrolactone en synthèse organique :

L'accès à une imine, a été possible à partir de l'acétylbutyrolactone et l'aniline dans l'éthanol à reflux [53] (Schéma I- 5).

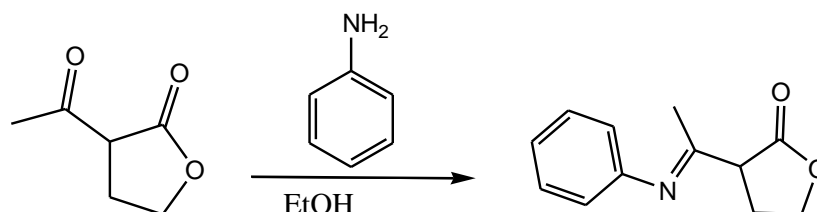


Schéma I-5 : Synthèse d'imine à partir de la 2-acétylbutyrolactone

De même, la mise en réaction de l'acétylbutyrolactone avec la phényléthylamine, aboutit à l'énaminone correspondante [54] (Schéma I-6).

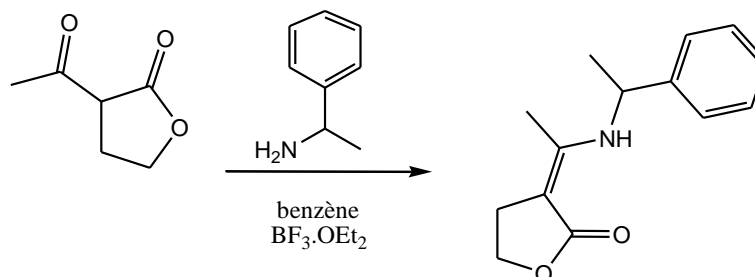


Schéma I- 6 : Synthèse d'énaminone à partir de la 2-acétylbutyrolactone

En revanche la 2-acétylbutyrolactone opposée à la 4-chloroaniline dans le toluène à reflux pendant 24 heures conduit à la formation de l'énamine correspondante [55].

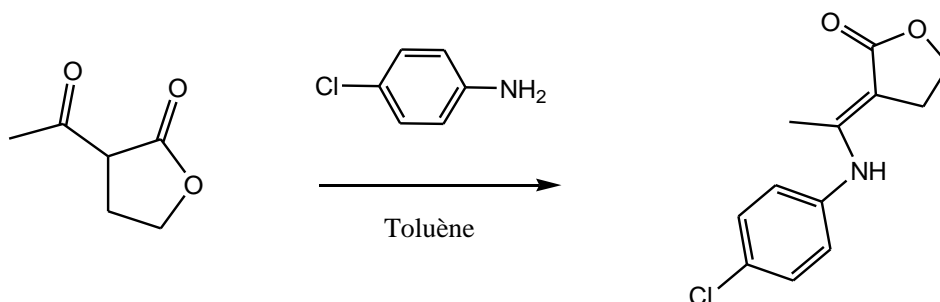


Schéma I-7 : Synthèse d'énaminone

Une aminolactone a été obtenue avec des rendements supérieurs à 84% (Schéma I-8) par la mise en réaction de l'acétylbutyrolactone avec la 8-amino-6-méthoxyquinoléine ou la 8-amino-6-méthyl quinoléine [56].

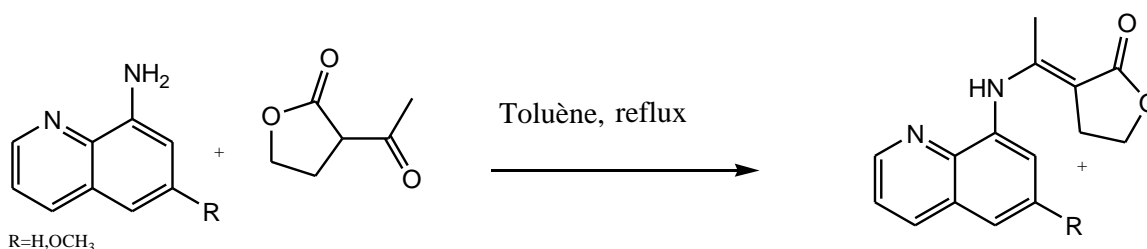


Schéma I-8 : Synthèse d'aminolactone

L'allylation de la 2-acétylbutyrolactone en présence des alcools allyliques se déroule doucement à une température de 50 °C en présence de quantités catalytiques de Pd(OAc)<sub>2</sub> (1-10% en moles), d'Et<sub>3</sub>B (30-40% en moles), un ligand de phosphine (1-20% en moles) et une base (0 à 50-60% en moles) [57].

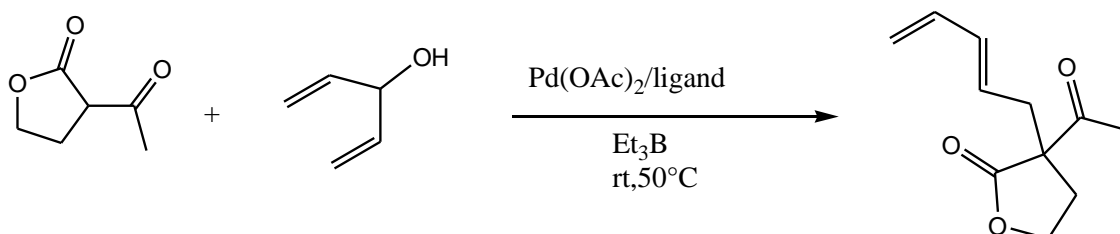


Schéma I-9 : Allylation de la 2-acétylbutyrolactone

- D'autre part, un protocole de synthèse (schéma I-10) visant l'obtention de structure azépine condensée à un cycle furanique a été réalisé par chauffage de l'acétyl-

butyrolactone, l'éthylène diamine et le benzaldéhyde dans le dichlorométhane [58].

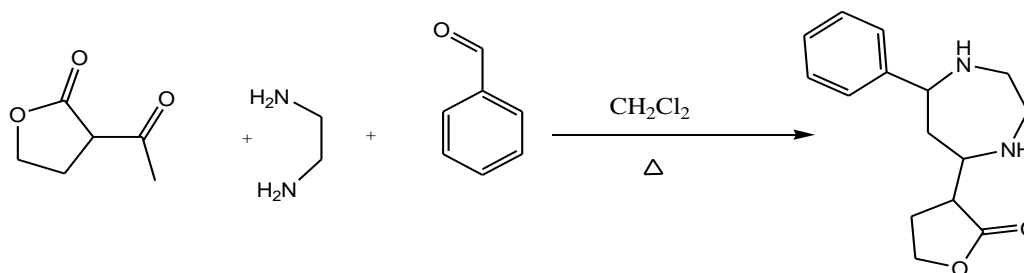


Schéma I-10 : Synthèse de structure azepine

En chimie combinatoire, une approche originale a permis l'obtention d'une  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone fonctionnalisée, en présence du tert-butylisocyanide et dialkylacétylène dicarboxylate avec des rendements variant de 62 à 66% [59].

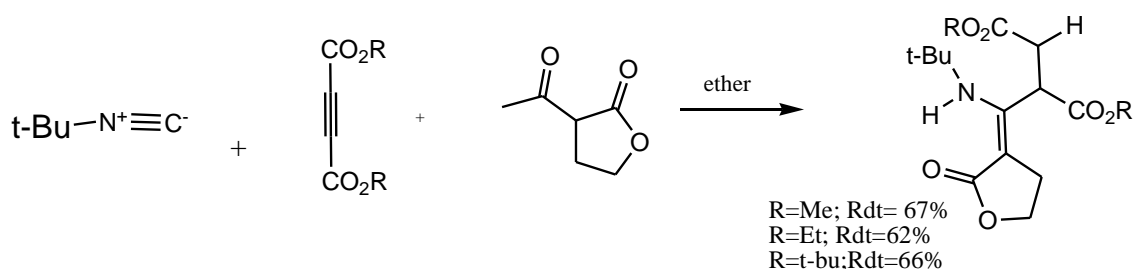


Schéma I-11 : Synthèse de l' $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -butyrolactone fonctionnalisée

Récemment, la synthèse régio- et stéréosélective de dérivés de dihydrofurane -2(3H) -one-triazolo[1,5-a]pyrimidine par une approche *Biginelli* dans le cadre de la chimie verte, à partir du benzaldéhydes ortho-substitués, du 3-amino-1,2,4-triazole et de l' $\alpha$ -acétylbutyrolactone a été rapportée.

Les hétérocycles obtenus avec de bons rendements possèdent une structure restreinte avec une stéréochimie définie et une stabilité accrue par rapport à d'autres produits obtenus par ce mode de réaction [60] (Schéma I-12).

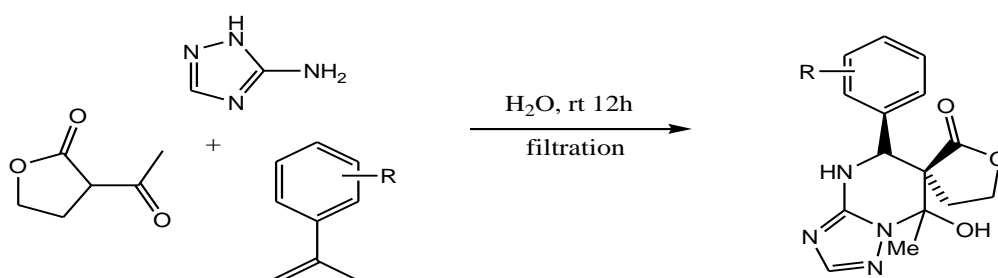
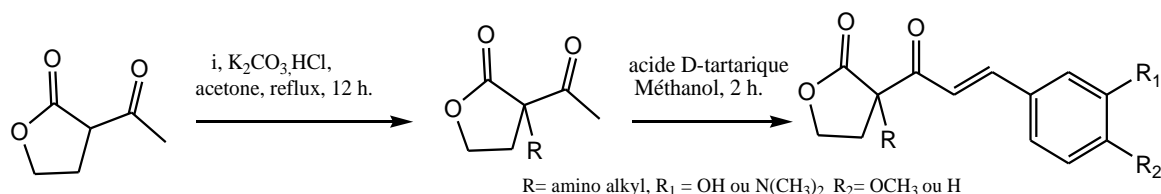


Schéma I-12 : Synthèse de dérivés de dihydrofurane -2(3H) -one-triazolo[1,5-a]pyrimidine

Par ailleurs *R. Pandey* et al. ont développé à partir de l'acétylbutyrolactone, une crème contraceptive minimisant les effets secondaires associés à d'autres types de contraception. Tout d'abord, la 2-acétylbutyrolactone a été aminoalkylé puis condensé avec un acide approprié [61-62].



i= pyrrolidionoéthyl ou N,N-diéthylaminoéthyl  
ou morpholinoéthyl ou N,N-diméthylaminopropyl)

Figure I-10 Dérivés de l'acétylbutyrolactone à activité spermicide

### I-2-2-1 Ouverture du cycle furanique

L'ouverture du cycle lactonique peut être théoriquement provoquée par des attaques nucléophiles sur le carbonyle de l'ester au moyen d'un chauffage dans un milieu acide. En parfumerie par exemple, l'acétylbutyrolactone **1** est employée dans la préparation du linalol, produit odorant d'origine végétale ou synthétique selon un processus qui permet l'ouverture du cycle furanique (schéma I-13) [63].

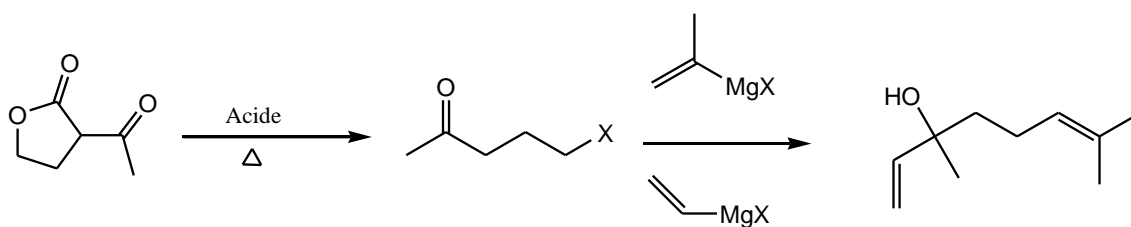


Schéma I- 13 : Synthèse de linalol

L'approche de molécules condensées (Figure I-11) a été soulevée par des travaux [64] à partir de l'acétylbutyrolactone avec les hydrazines substituées dans l'eau avec des rendements de 65 à 78% , dont le processus permet l'ouverture du cycle furanique

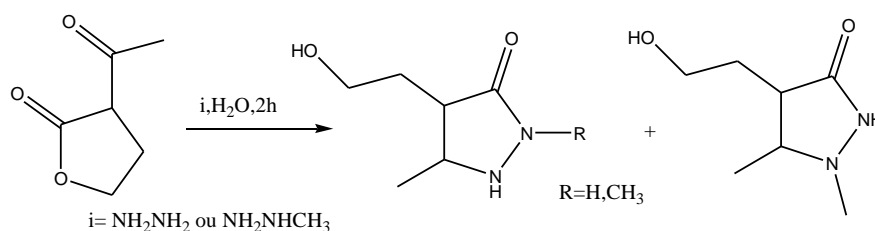


Figure I-11 : Condensation des dérivés de l'hydrazine sur l'acétylbutyrolactone

Par la réaction d'aminoguanidine bicarbonate et l'acétylbutyrolactone dans l'éthanol à reflux pendant 15h, se forme une pyrazynone avec un rendement de 76% [65], précurseur repris dans les travaux d'autres équipes de recherches [66] qui a permis l'obtention des pyrazolones diversement fonctionnalisés dont certains présentent des activités anti-inflammatoire, analgésique, ou antypirétique. (Schéma I-14)

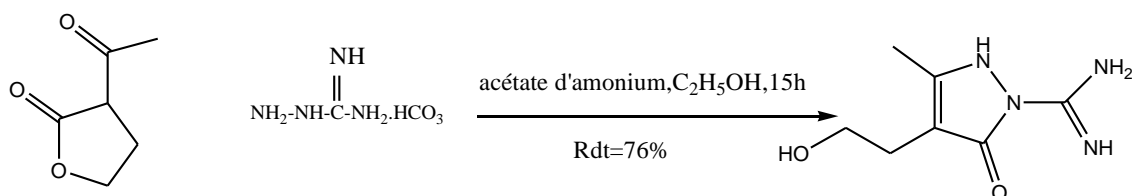


Schéma I-14 : Synthèse de pyrazolones diversement fonctionnalisés

Selon le schéma ci-après (Schéma I-15) un cycle imidazole peut être introduit dans un squelette acétylbutyrolactone, sython utilisé dans la synthèse de composé ayant une excellente activité antagoniste du récepteur du facteur de libération de la corticotrophine [67].

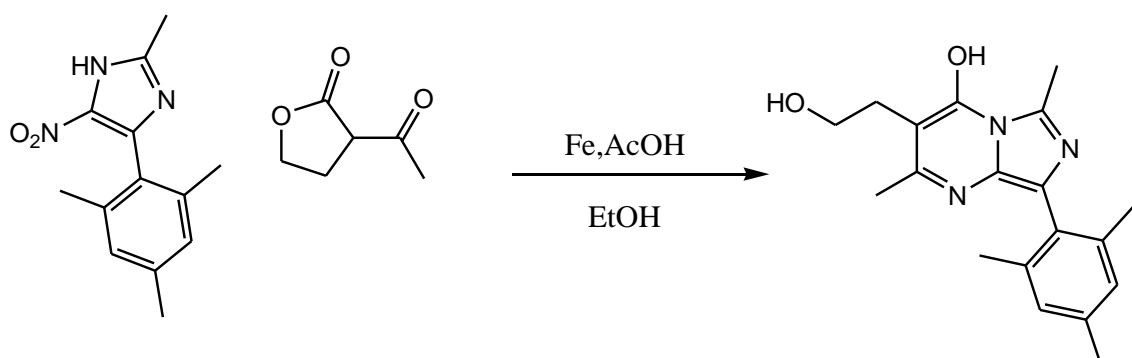


Schéma I-15 : Synthèse de composé à activité antagoniste

*D. Zimmermann* et al. rapportent la synthèse d'une structure condensée pyrido-pyrimidinone par la mise en suspension de la 2-acétylbutyrolactone et la 2-amino-3-hydroxypyridine dans le chlorobenzène [68] (Schéma I-16).

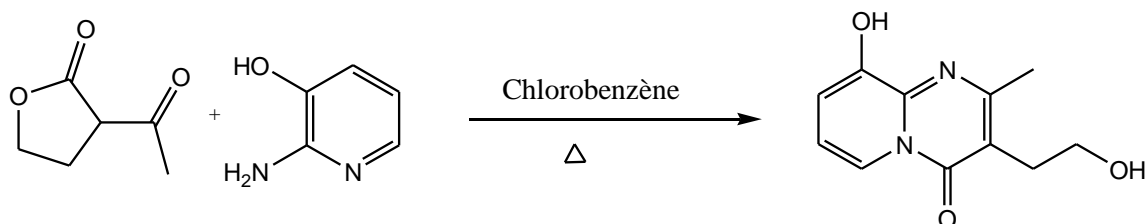


Schéma I-16 : Synthèse d'une structure condensée pyrido-pyrimidinone



Une structure condensée pyridobenzimidazole a été obtenue par action du 2-(1H-benzoimidazol-2-yl)acétonitrile sur la 2-acétyl- $\gamma$ -butyrolactone **1** [69] (Schéma I-17)

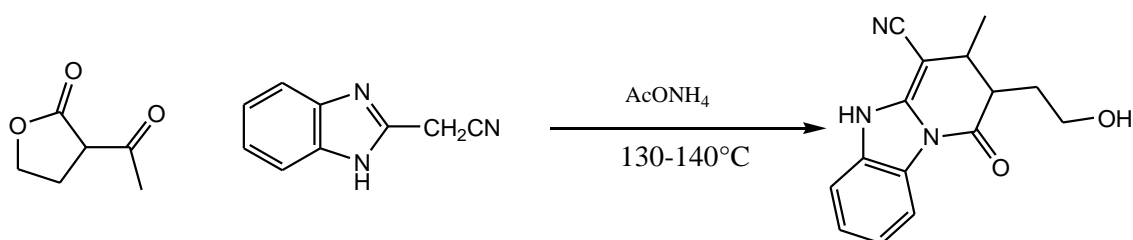


Schéma I-17 : Synthèse d'une structure condensée pyridobenzimidazole

### I-2-2-2 Actions de dérivés thioamides sur la 2-acétylbutyrolactone :

La mise en réaction d'une quantité équimolaire d'acétylbutyrolactone et de thiosemicarbazide dans un mélange éthanol/eau, permet la formation de la 2-acétyl-c-butylolactone-thiosemicarbazone correspondant, sans ouverture du cycle furanique [70], un ligand précurseur dans la synthèse de complexe de coordination à activité antifongique et antibactérienne[71] (Schéma I-18) .

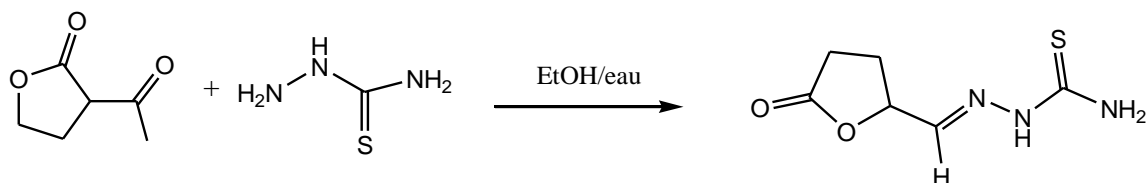


Schéma I- 18 : Synthèse de la 2-acétyl-c-butylolactone-thiosemicarbazone

Depuis, cette réaction a été reprise dans d'autres conditions opératoires, qui ont conduit à la formation d'une structure condensée furano-pyrazole [72] (Schéma I-19).

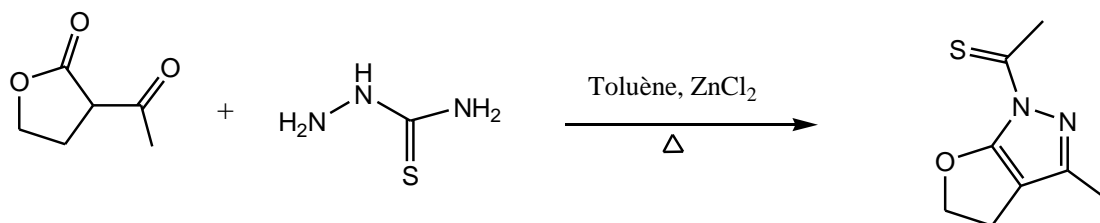


Schéma I- 19 : Synthèse d'une structure condensée furano-pyrazole

Par ailleurs, l'action d'autres composés soufrés sur l'acétylbutyrolactone, dans certaines conditions opératoires provoque l'ouverture du cycle furanique.

Ainsi des structures de type pyrimidinone et thioperimidinone sont obtenues en présence respectivement de thiourée et de thiazolamines [73- 74].

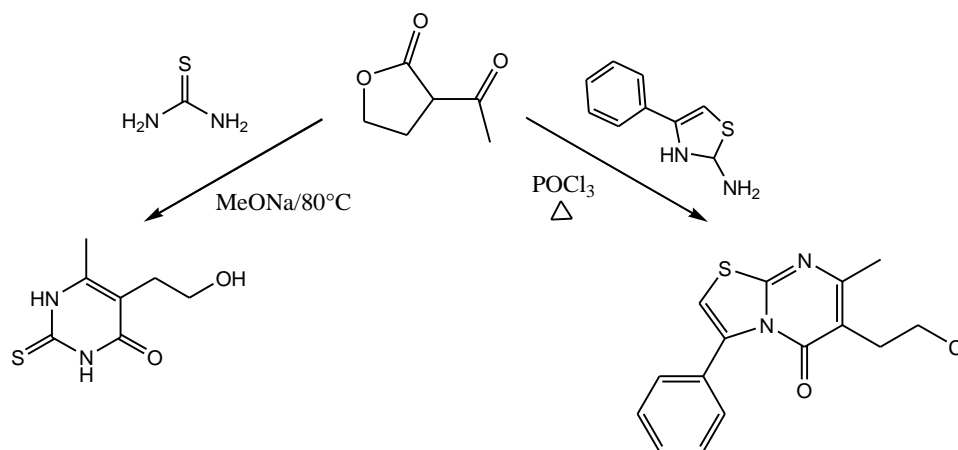


Schéma I-20 : Synthèse de pyrimidinone et thioperimidinone

### 1-2-3 Le thiazole

#### I-2-3-1 Présentation et intérêts du noyau thiazolique.

Les thiazoles ou (1,3 thiazoles) constituent une grande famille de composés hétérocycliques à cinq chaînons comportant un hétéroatome soufré et un autre azoté [75].

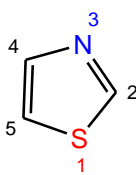


Figure I-12 Le thiazole

Les thiazoles sont des isomères des isothiazoles (1,2-thiazole) et apparentés aux 1,3-azoles (azote et un autre hétéroatome dans un cycle à cinq chaînons).

Ils sont planaires et aromatiques sur la base de la délocalisation d'une paire d'électrons célibataires de l'atome de soufre [75] (figure I-13).

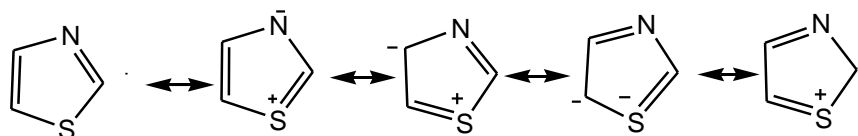
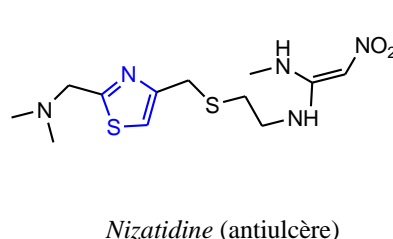
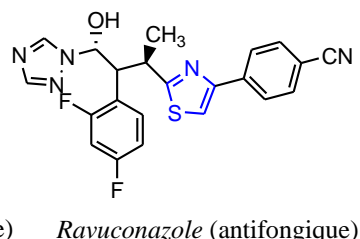
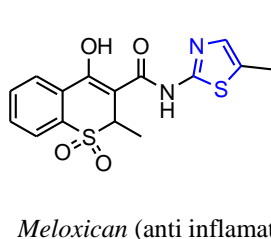
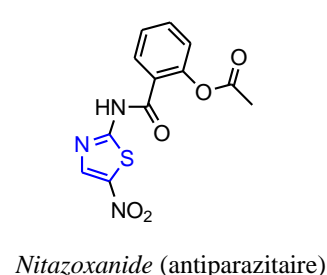
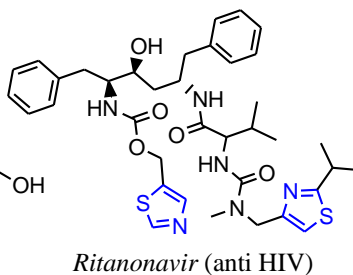
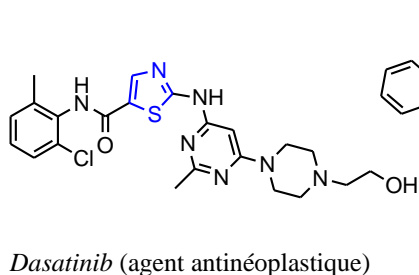
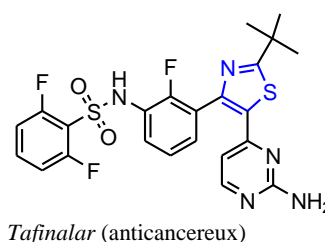
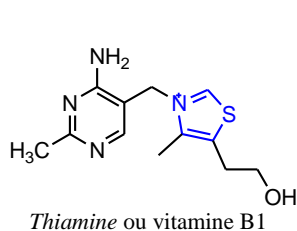


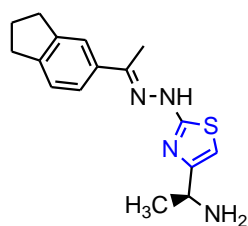
Figure I-13 forme limite du thiazole

Le caractère aromatique du noyau thiazole mis en évidence par spectroscopie RMN<sup>1</sup>H, est révélé par le déplacement chimique des atomes d'hydrogène entre 7,27 et 8,77 ppm, indiquant clairement un fort effet diamagnétique. La densité des électrons  $\pi$  indique que la position de C-5 est le site principal pour la substitution électrophile et la position du C-2 est le site pour la substitution nucléophile [75].

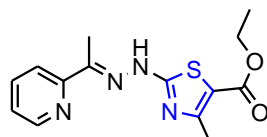
Le groupement thiazole représente la partie cruciale de la vitamine B<sub>1</sub> [76] et prend part dans la structure finale d'un nombre de médicaments cliniquement utilisés, à grand intérêt thérapeutique : *le Tafinlar* [79] *le Dasatinib* [78] *le Ritonavir*, [79], *le Ravuconazole* [80], *le Nitazoxanide* [81], *le Meloxicam* [82], *le Nizatidine* [83].



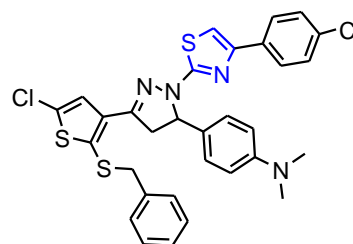
En plus des différents médicaments, des dérivés thiazoles avec des activités biologiques diverses incluant les antifongiques [84], les antituberculeux[85], les anticancéreux [86], les antioxydants [87], les anti-inflammatoires [88], les anticonvulsifs [89] et plusieurs inhibiteurs d'enzymes, qui peuvent être utiles pour le traitement de maladies chroniques telles que l'Alzheimer[90], le diabète[91], la goutte[92] ont été mentionnés dans la littérature.



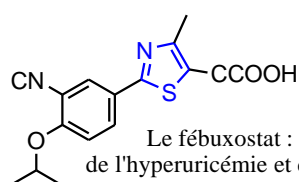
agent anti-fongique



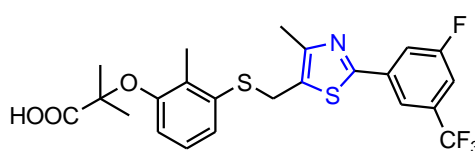
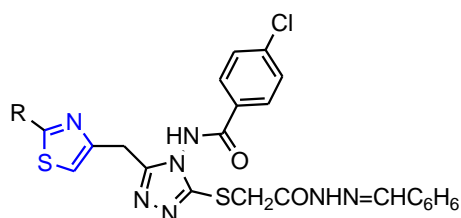
dérivé à activité antituberculeuse



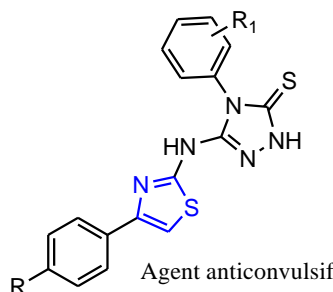
agent anti-oxydant



Le febuxostat : traitement de l'hyperuricémie et de la goutte chronique

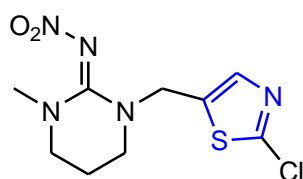
Sodelglitazar (GW 677954)  
récepteur antagoniste -activité antidiabète de TypeII

Activité inhibitrice de la maladie d'Alzheimer



Agent anticonvulsif

Dans un domaine plus large, le noyau thiazolique trouve de même sa place dans la structure de divers composés, comme l'insecticide Thiamethoxam [93], et dans les domaines de l'optoélectronique et le photovoltaïque grâce au transfert de charge existant au sein de ces composés [94].



Thiamethoxam (insecticide)

## I-2-3-2. Mise au point bibliographique sur la synthèse de thiazoles

Parmi les grandes voies d'accès permettant l'obtention de la structure thiazole, la stratégie traditionnelle de *Hantzsch* est la plus couramment utilisée. Développée en 1887, il s'agit d'une réaction entre les  $\alpha$ -halocétones et les thioamides selon le schéma réactionnel suivant [95] (SchémaI-21).



SchémaI-21 : Synthèse de thiazole selon la stratégie de *Hantzsch*

Le grand nombre de  $\alpha$ -bromocétones disponibles dans le commerce rendent attrayante la manière à introduire la diversité en positions  $\text{R}_2$  et  $\text{R}_3$  du thiazole (SchémaI-22).

Ainsi, les 2-aminothiazoles peuvent être obtenus avec une grande pureté et de bons rendements [96].

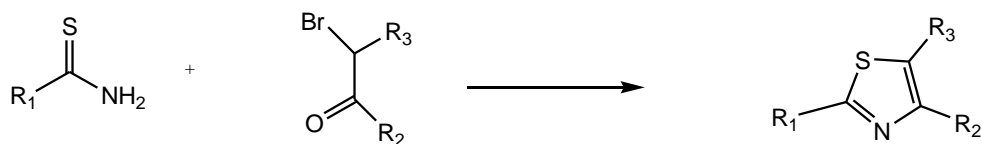
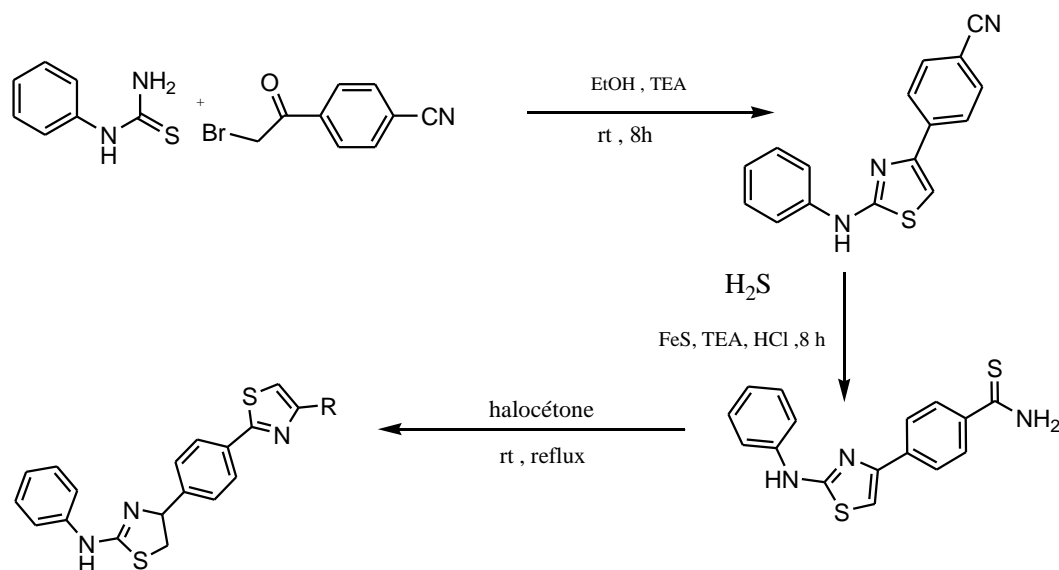


Schéma.I-22 : Synthèse des les 2-aminothiazoles

Depuis peu, *Ngono Bikobo* et al. ont rapporté la synthèse par double condensation de *Hantzsch*, de nouvelles structures aux noyaux di-thiazoliques(Schéma I-23) montrant une activité antibactérienne et une autre antifongique [97].



R= Ph, *p*-H<sub>3</sub>CO-Ph, *p*-NO<sub>2</sub>, *p*-Cl-Ph, *p*-cyano-Ph, Cl-CH<sub>2</sub>-

Schéma I-23 : Synthèse de nouvelles structures aux noyaux di-thiazoliques

Les  $\alpha$ -halonitriles peuvent substituer des composés  $\alpha$ -halogénocarbonylés dans la synthèse de *Hantzsch*. Ainsi, les 2,4-diaminotiazoles (Schéma I-24) sont obtenus à partir de la thiourée avec l' $\alpha$ -halonitrile dans l'éthanol à reflux [98-100].

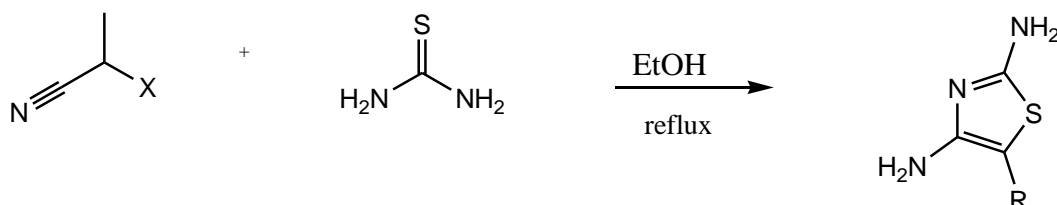


Schéma I-24 : Synthèse des 2,4-diaminotiazoles

Récemment, des 2-aminotiazoles et des 2-amino-1,3-sélénothiazoles (Schéma I-25) ont été obtenus avec de bons rendements de 82 à 85%, par la condensation de Hantzsch d'un équivalent du 2-(bromoacétophénone sur 1.2 à 2 équivalents de thiourée ou de la séléno-urée, une voie de synthèse écologique très rapide sans solvant ni catalyseur. [101].

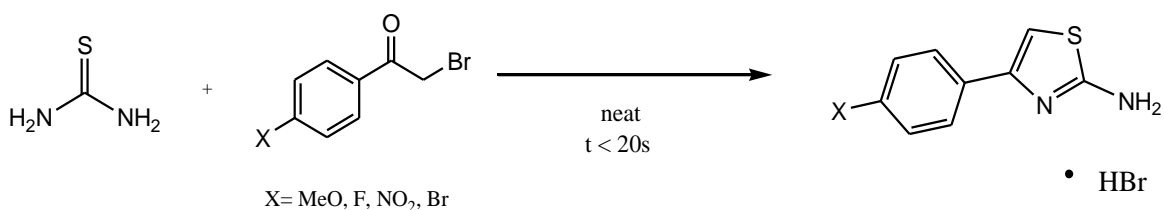


Schéma I-25 : Synthèse des 2-aminotiazoles

La synthèse de *Gabriel* mise en œuvre en 1910 est une autre méthode qui permet l'obtention d'un cycle thiazole. La réaction d'une acylamino-cétone en présence du pentasulfure de phosphore, conduit au thiazole 4-disubstitué correspondant (Schéma I-26) [102].

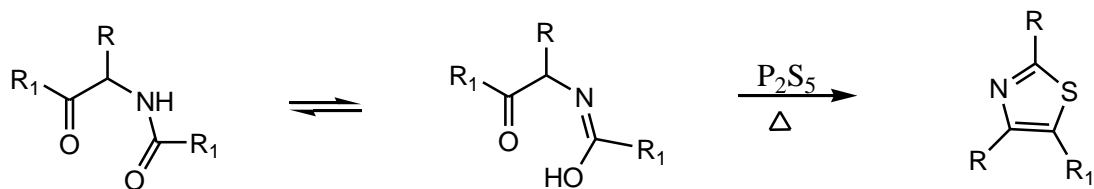


Schéma I-26 : Synthèse de thiazole 4-disubstitué

Dans le même ordre d'idées, dans une approche plus récente, le traitement des aryl -N, N-diformylaminométhyl-cétones avec le pentasulfure de phosphore et la triéthylamine dans le chloroforme aboutit à des 5-aryltiazoles (Schéma I-27) avec de bons rendements variant entre 54 et 83% [103].

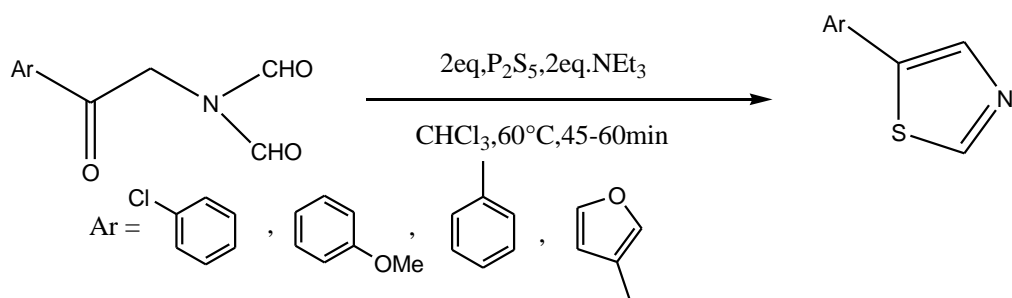


Schéma I-27 : Synthèse des 5-aryltiazoles

La synthèse du thiazole selon *Cooke Heilbron* (1949) met en réaction l'aminonitrile avec du disulfure de carbone pour former les 5-amino-2-mercaptothiazoles correspondants [104] (Schéma I-28).

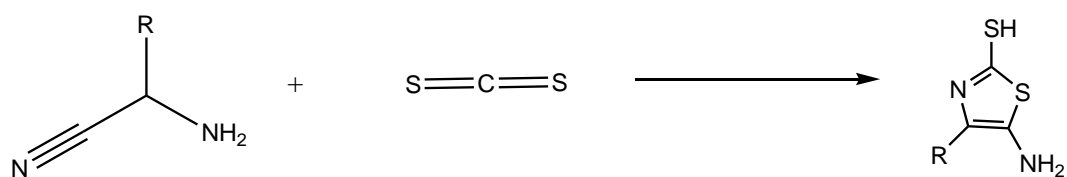


Schéma I-28 : Synthèse des 5-amino-2-mercaptothiazoles

La recherche récente ne cesse de s'intéresser à d'originales voies de synthèse de structure à base de noyau thiazolique, à l'image des réactions ci-après, citées à titre indicatif.

La [3 + 1 + 1] condensation d'oximes, d'anhydrides et de thiocyanate de potassium (KSCN) catalysée par le cuivre dans des conditions réactionnelles douces, a permis d'accéder à des thiazoles différemment substitués (Schéma I-29) avec des rendements variant entre 52 à 82%. [105].

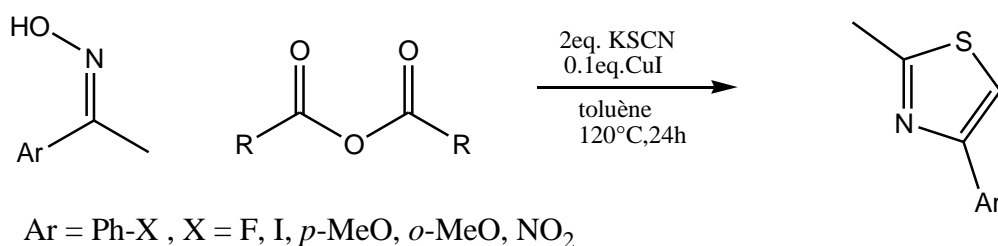


Schéma I-29 : Synthèse des thiazoles différemment substitués

Le couplage catalysé par le cuivre mettant en réaction l'acétate d'oxime avec des isothiocyanates aboutit à divers 2-aminothiazoles 4-substitués et 4,5-disubstitués dans des conditions réactionnelles douces via le clivage par liaison N-O [106] (Schéma I-30).

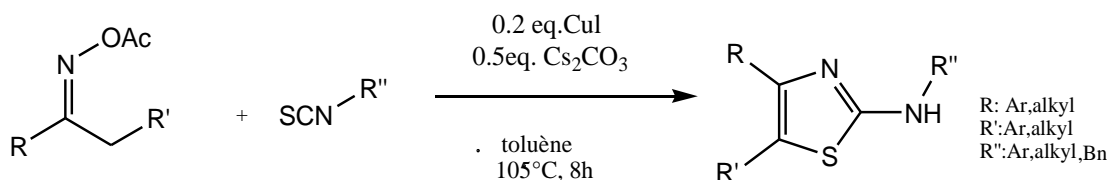


Schéma I-30 : Synthèse des 2-aminothiazoles 4-substitués et 4,5-disubstitués

Le schéma ci-après (Schéma I-31) présente une méthode pratique réaction catalysée par l'acétate de palladium (II) dans des conditions douces qui permet d'obtenir des structures hautement sélectives de type 2-aminothiazoles substitués en 4 à partir d'azotures vinyliques et trois équivalents de thiocyanate de potassium.

De même, la catalyse par le bromure de fer (III) favorise la formation des 5-thiocyano-2-aminothiazoles 4-substitué [107].



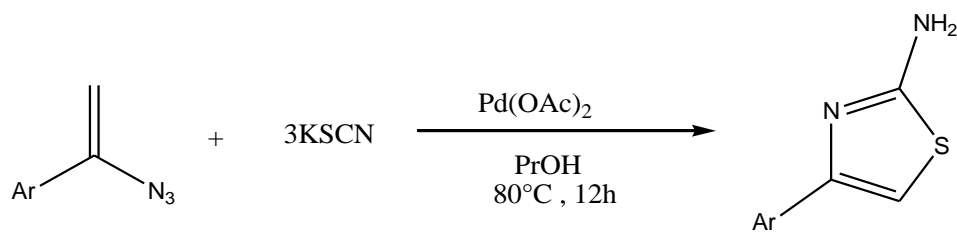


Schéma I-31 : Synthèse de composés de type 2-aminothiazoles substitués

### Utilisation du thiosemicarbazide dans la synthèse de thiazoles :

Une approche originale dans la synthèse de structure condensée à partir de la 3-(2-bromoacétyl)-chroman-2-one dérivée de la coumarine, la thiosemicarbazide et la 2-acétylbutyrolactone selon deux voies différentes de synthèse, a permis l'accès en une seule étape à la structure schématisée ci-dessous avec de très bons rendements [108] (Schéma I-32).

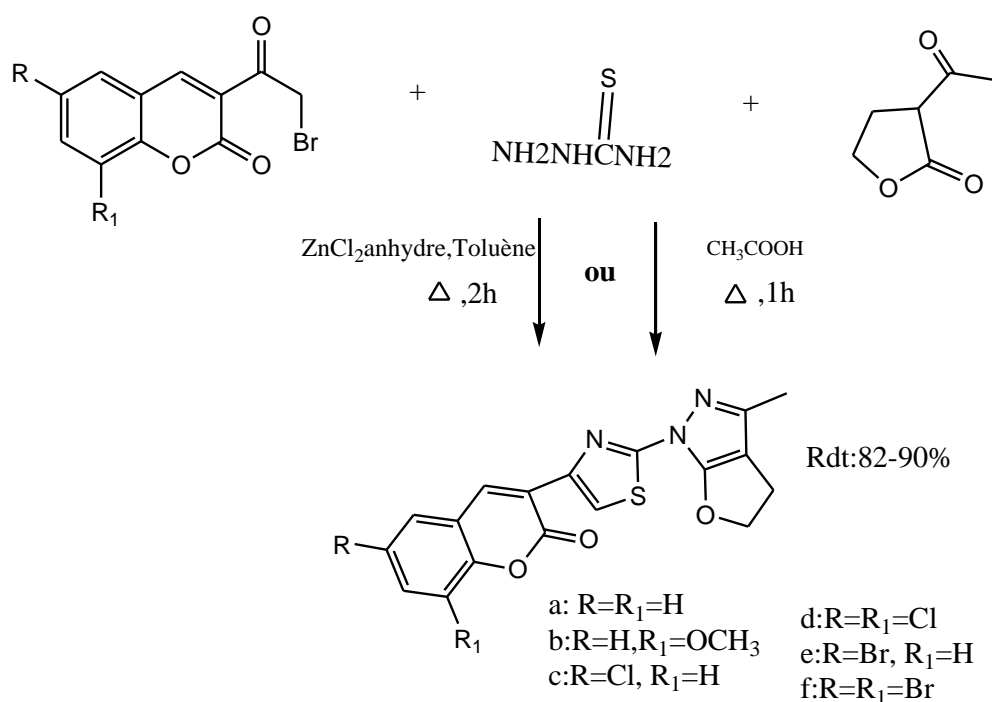


Schéma I-32 : synthèse de structures condensées à partir de l'ABL et du thiosemicarbazide

L'acide tétronique porté à reflux dans l'éthanol avec le thiosemicarbazide différemment substituée conduit à des dérivés énamines correspondantes. Ces dernières réagissent avec le 2-bromopréopinate dans l'éthanol en présence de l'acétate de sodium anhydre

conduisant aux 4-thiazolidinones représentées dans le (schéma I-33) avec des rendements variant de 30 à 68 % [109].

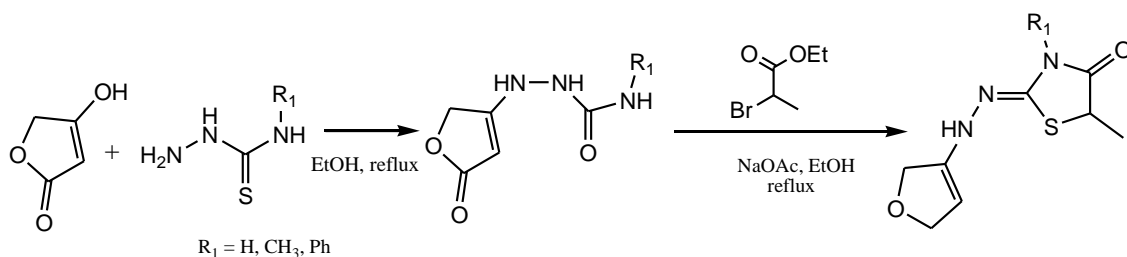


Schéma I-33 : Synthèse des 4-thiazolidinones à partir de l'acide tétronique

Les mêmes auteurs rapportent la synthèse des 4-thiazolidinones correspondants à la mise en réaction de la 4-hydroxy-6-méthyl-2-one-pyrane avec le thiosemicarbazide différemment substituée dans un premier temps puis avec le benzyl 2-bromo acétate dans un deuxième temps selon le même protocole de synthèse sus-cité [109] (Schéma I-34).

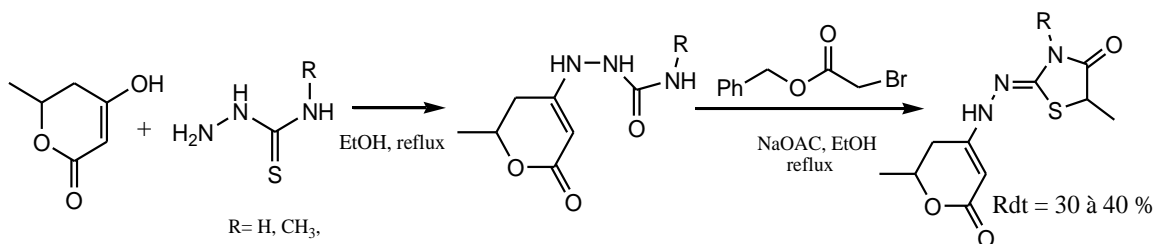


Schéma I-34 : Synthèse des 4-thiazolidinones à partir de la 4-hydroxy-6-méthyl-2-one-pyrane

Une structure portant un noyau thiazolidique et un autre pyrazolique (Schéma I-35) a pu être obtenue par la synthèse en trois étapes, à partir de l'acide déhydroacétique et la thiosemicarbazide, dans une première étape pour obtenir l'imine correspondante. Puis en présence du phénylacylbromide pour aboutir au noyau thiazole dans une deuxième étape et enfin la cyclisation pour obtenir le noyau pyrazolique dans un mélange (1:4) éthanol-acide acétique dans une troisième étape [110].

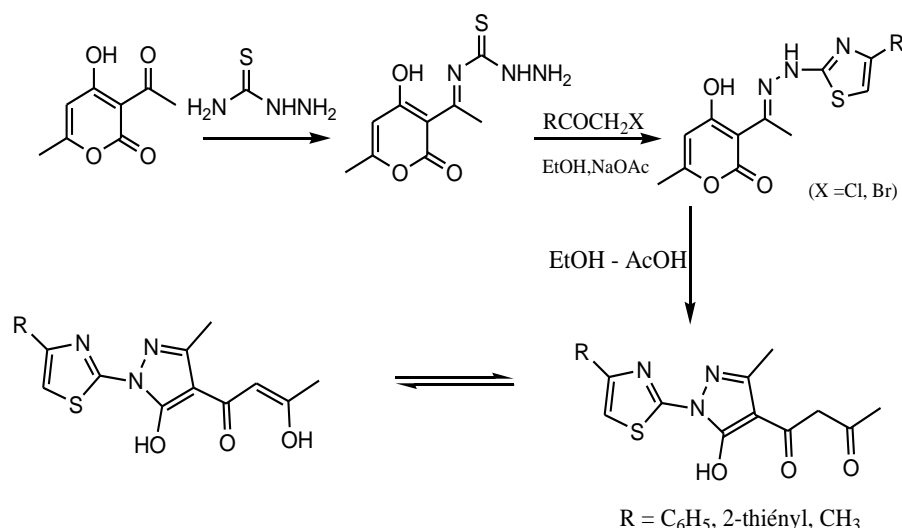


Schéma I-35 : Synthèse de structures condensées thiazolopyrazoliques

Une synthèse (Schéma I-36) mettant en réaction l'acétylbutyrolactone en présence du POCl<sub>3</sub>. Le mélange réactionnel porté à reflux pendant 1h, a impliqué la cyclisation, qui a conduit simultanément à la formation de fragments : thiazole, pyrazolone et cyclopropane, le 7-méthyl-5-[4-aryl-thiazol-2-yl]-5,6-diazaspiro[2.4] hept-6-one a été obtenu en une étape [111].

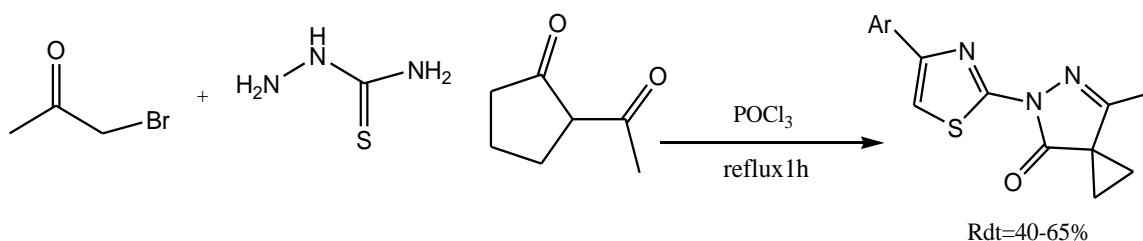


Schéma I-36 : Synthèse du 7-méthyl-5-[4-aryl -thiazol-2-yl]-5,6-diazaspiro[2.4] hept-6-one

Les mêmes auteurs ont mis en évidence une autre voies de synthèse du composé sus-cité, mais cette fois en deux étapes, mettant en réaction dans un premier temps la bromocétone et la thiosemicarbazide dans l'éthanol afin d'obtenir le 2-oxo-2-phényl-éthylhydrazinecarbimidazo-thioatéhydrobromide. Puis, dans un deuxième temps la réaction de ce dernier avec l'acétylbutyrolactone en présence du POCl<sub>3</sub> à reflux, pourrait donner la possibilité de formation de deux types de composés par cyclisation des intermédiaires, mais l'analyse spectrale a prouvé la formation du même composé

que celui isolé par la voie en une seule étape et avec des rendements similaires (Schéma I-37) [111].

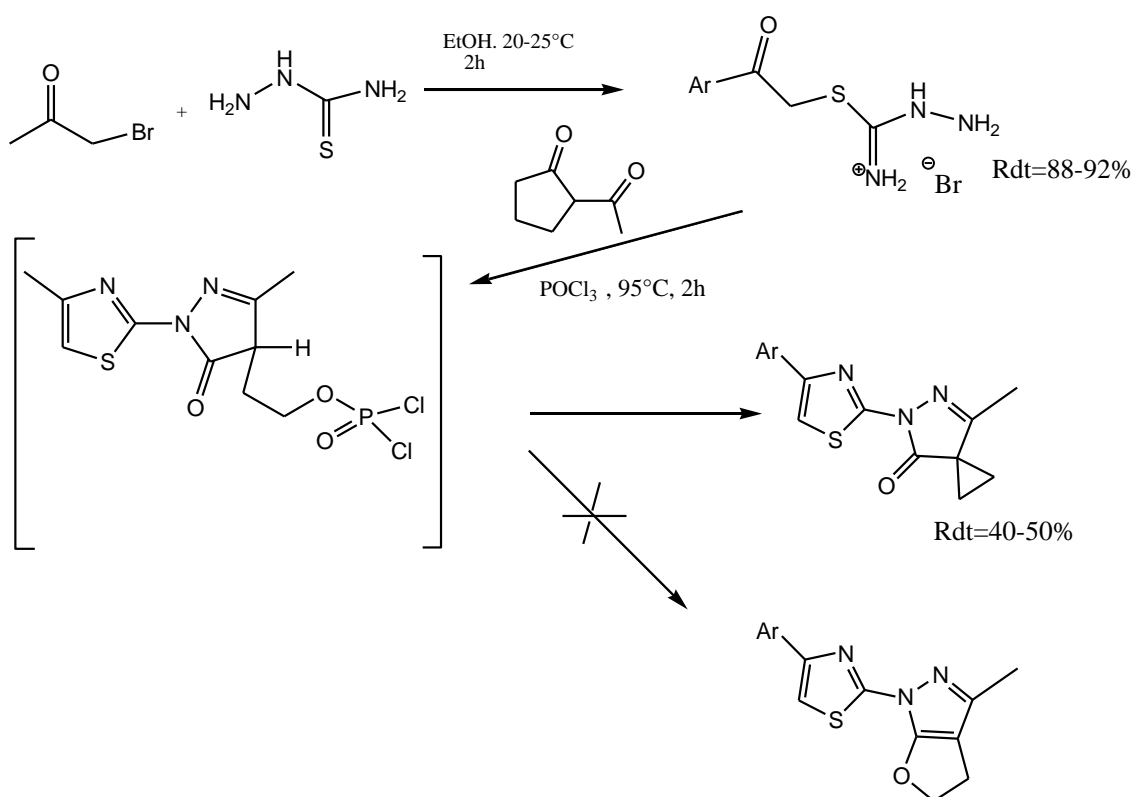
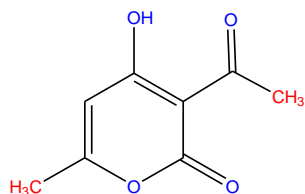


Schéma I-37 : Synthèse du 7-méthyl-5-[4-aryl -thiazol-2-yl]-5,6-diazaspiro[2.4] hept-6-one en deux étapes

### 1-3 Généralités sur le DHA :

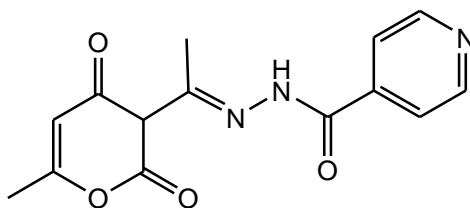
L'acide déhydroacétique-3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one commercialement abrégé en DHA, est un composé hétérocyclique oxygénée dérivé de la 2-pyrone .



4

Figure I-14 : Acide déhydroacétique-3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one

Le DHA et ses dérivés trouvent une large application comme conservateurs, anti-microbiens (*Kunigoshi et al.* 1960) ou antifongiques dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique.



(*Kunigoshi et al.* 1960)

Figure I-15 : Le DHA comme anti-microbien

Cette 2-pyrone est de même utilisée dans la fabrication de gelée pour crèmes glacées [112], dans la fabrication de fibres à faible pH, comme réactif pour détecter l'activité de la créatine kinase MB isoenzyme (CK-MB) ou encore comme plastifiant dans une variété de résines synthétiques [113-114].

Le déshydroacétate de sodium est utilisé dans la préparation de conservateurs anti-microbiens pour les émulsifiants, dans les gâteaux à haute teneur en eau et dans les pâtes [115-120].

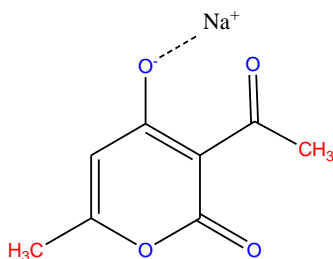
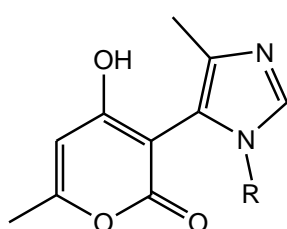
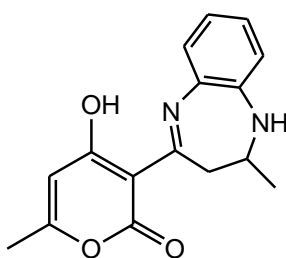


Figure I-16 : Le déshydroacétate de sodium

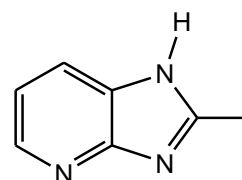
Le DHA est également utilisé comme molécule de départ polyvalente pour la synthèse de nombreux pharmacophores potentiels tels que les benzodiazépines [121] (Fodili et al 1999), imidazopyridine [122] (Bouayad et al 2016), imidazoles [123-124] (Fodili et al 2015), à travers une condensation avec une variété de nucléophiles comme l'*o*-phénylènediamine.



(Fodili et al.2015)



(Fodili et al.1999)



(Bouayad et al. 2016)

Figure I-17 : Pharmacophores potentiel obtenus à partir du DHA

Le DHA est un bon ligand chélateur [125] ; il est sujet de plusieurs études récentes de l'activité de nombreux de ses dérivés en tant qu'antibactériens (Vishwakarma et al. 2016), (Kashmiri et al., 2018), antimicrobiens (Nechak et al., 2015) [126,131] , antifongiques [128] (Sundar et al., 2016), anticancéreux [133] (Swamy et al. 2015), agents DNA-photoclivage [136] (Pal et al., 2014), analgésiques et anti-inflammatoires [94] (Kummar et al., 2012), antiviraux [134] ( Tambov et al., 2012) et anti-HIV[135] (Defant et al., 2015)

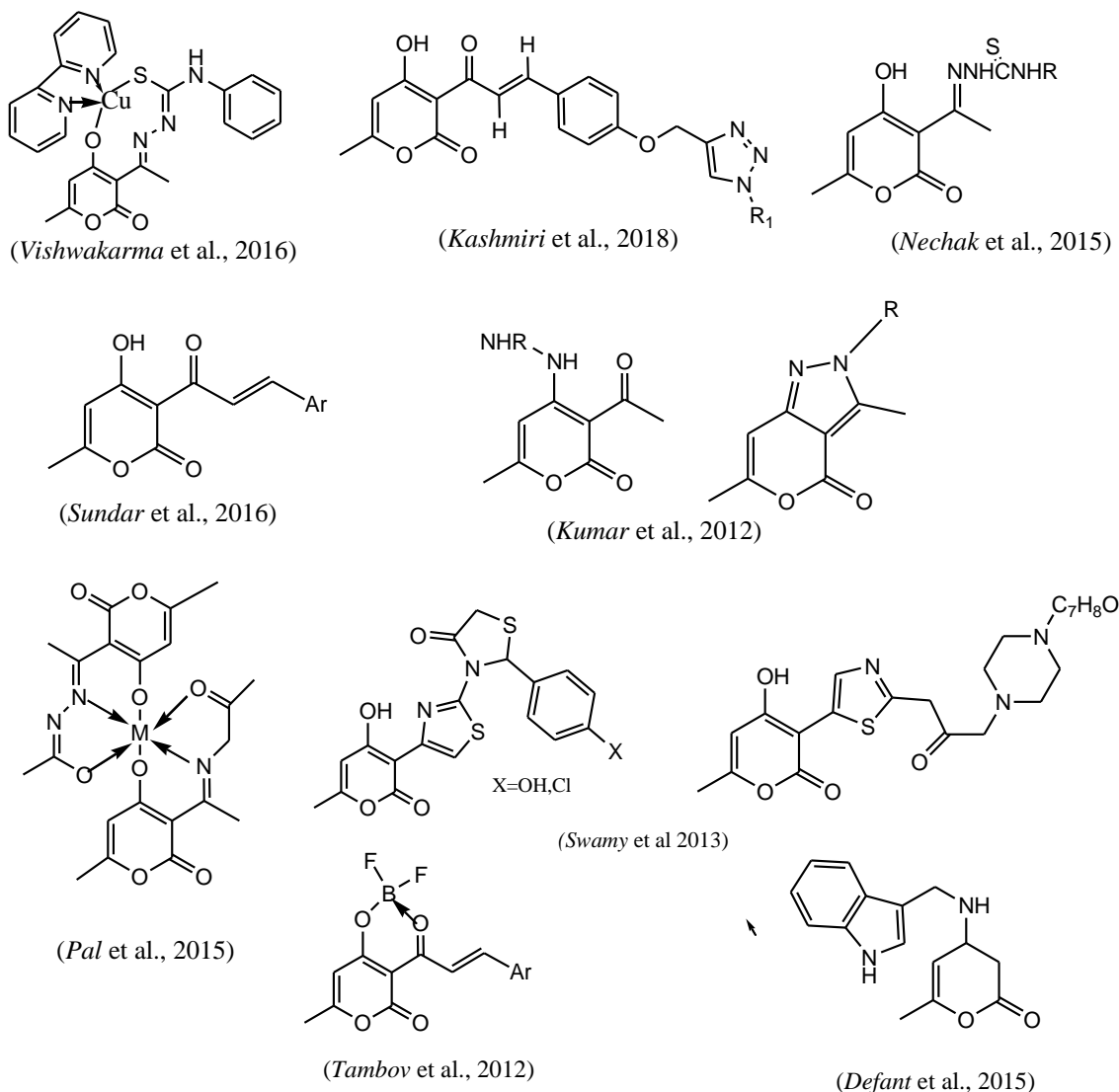
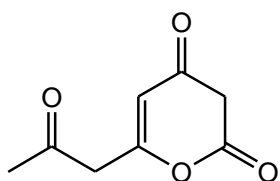
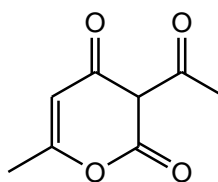


Figure I-18 : Pharmacophores reconnus obtenus à partir du DHA

### Structure :

$C_8H_8O_4$  est la formule brute de plus de 180 isomères de constitution de l'acide déhydroacétique, qui peuvent être cycliques ou linéaires. La détermination de la structure correcte de l'acide déhydroacétique, est devenue incontournable en raison de la grande variété de composés importants qui peuvent être facilement préparés à partir de cet acide. Cependant, il a fallu plus de 70 ans, de 1882 à 1952, afin de mettre une structure finale à l'acide déhydroacétique, après de nombreuses propositions [137-142],

pour arriver aux hypothèses de *Feist* [143] et *Collie* [144-145] basées sur le fait que l'acide déshydroacétique soit une lactone.

Formule proposée par *Collie*Formule proposée par *Feist*

*Forsen* et *Nilsson* [146] ont conclu par des études spectrales (infra-rouge et RMN) que l'acide déshydroacétique a une structure pyranne. De même, *Berson* [147] et *Billes* [148] ont confirmé la formule proposée par *Feist*, grâce à une étude spectrale vibrationnelle, infrarouge et Raman

Le DHA a quatre tautomères principaux (Fig 9) dont le 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one **4** est la forme la plus stable [149]. Ce système étant le plus conjugué de tous les tautomères, il ne contient pas de doubles liaisons carbone-carbone exocyclique, connues êtres moins stables dans les cycles à six membres que les doubles liaisons endocycliques (figure I-19).

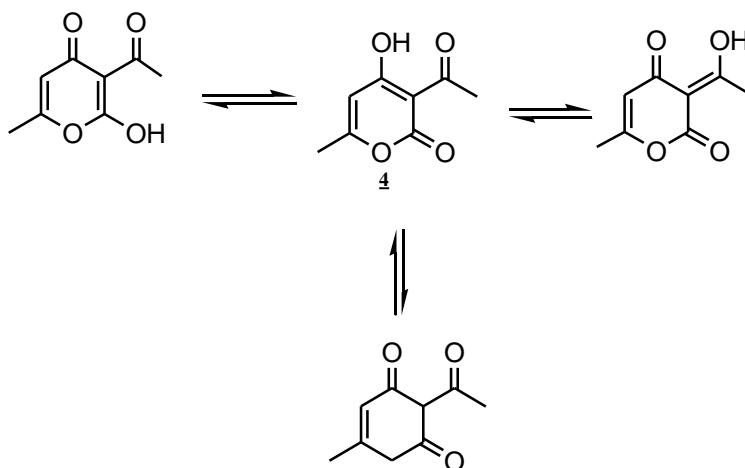


Figure I-19 formes limites du DHA

### I-3-1 Synthèse de l'acide déshydroacétique :

Le nom : « acide déshydroacétique » provient du fait qu'il soit constitué de quatre molécules d'acide acétique avec l'élimination de quatre molécules d'eau.



Le DHA fut découvert en 1866 par *Geuther* comme l'un des produits de la pyrolyse de l'acétoacétate d'éthyle. [150], il a également pu être isolé à partir de ressources naturelles (*solandranitida*) [151-154].

Diverses voies de synthèses ont été expérimentées afin d'obtenir ce composé, les plus anciennes sont montrées par le schéma ci-après [155-158] (Schéma I-38).

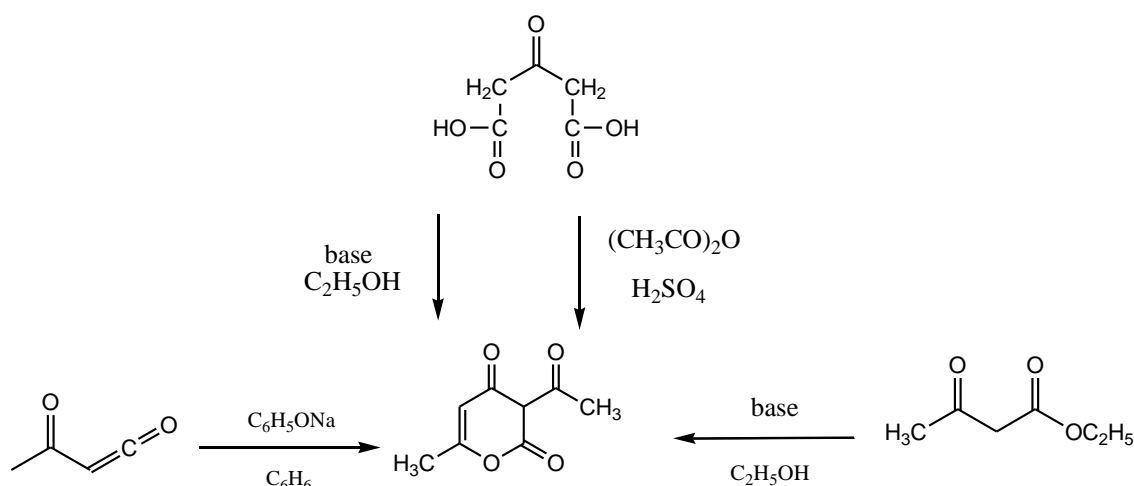


Schéma I-38 : Synthèse de l'acide déhydroacétique

La recherche sur la synthèse de l'acide déhydroacétique ne s'arrêtant pas là, le DHA a de même pu être obtenu par polymérisation du dicétène en présence d'une catalyse basique dans des hydrocarbures aromatiques utilisés comme solvant [159-161], ou par l'acylation de l'acide triacétique lactone par l'acide acétique [162], l'acétyl chlorique [163] ou l'anhydride acétique [164] en présence de l'acide sulfurique, de la pyridine ou l'acétate de sodium (Schéma I-39).

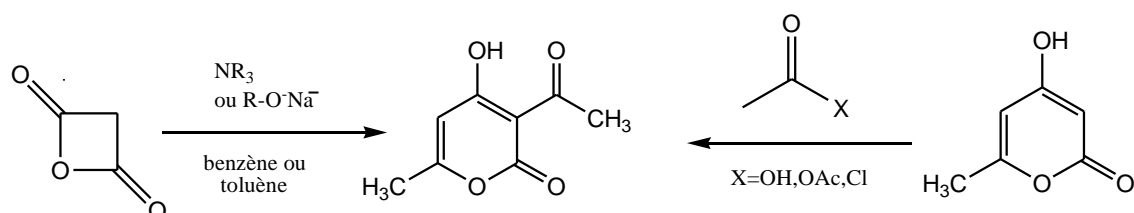


Schéma I-39 : Synthèse de l'acide déhydroacétique par polymérisation ou par acylation

L'intermédiaire obtenu par la 1,3-dioxinone, la 1-éthoxybutyn-3-one [165], le diacétoneoxaly [166-168] ou par la 1,3-oxazine [169] peut trouver son chemin vers le DHA grâce à une réaction de Hetero-*Diels- Alders* ou par une cyclo-addition de type [4+2] (Schéma I-40).

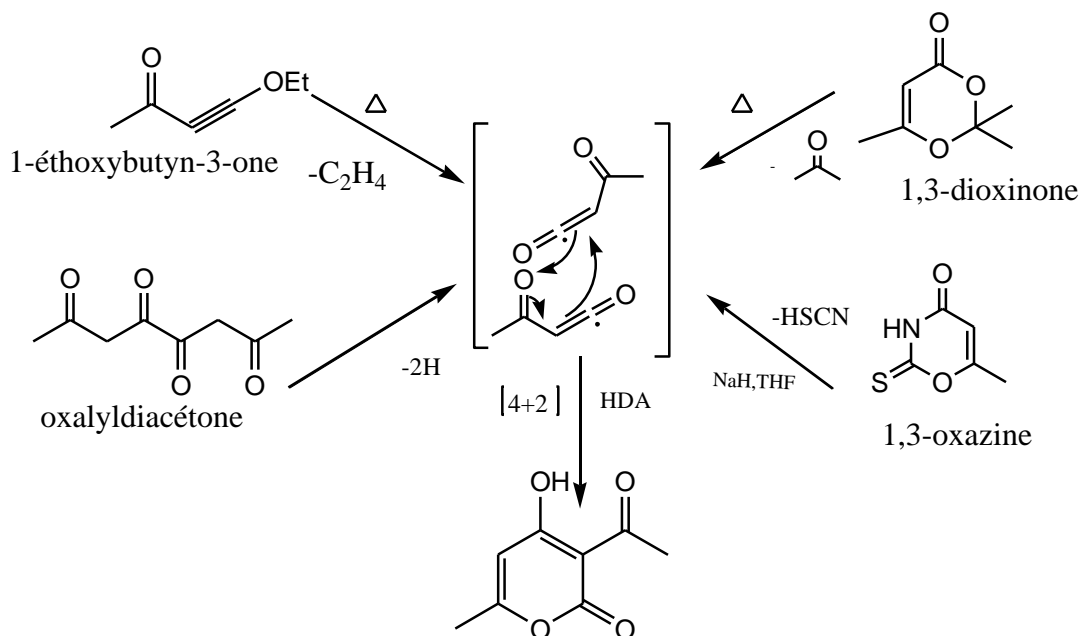
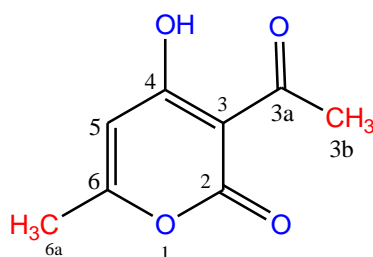


Schéma I-40 : Synthèse de DHA par une réaction de Hetero-*Diels- Alders*

### I-3-2 Réactivité de l'acide déhydroacétique

L'acide déhydroacétique possède de nombreux sites actifs. Les atomes de carbone C2, C4, C6 et C3a sont des centres hautement électrophiles [170-171,126] alors que les carbones C3 et C5 ont des propriétés nucléophiliées [172].

Les réactions avec les nucléophiles en C2 et C6 provoquent l'ouverture de l'anneau pyronique qui, en général, est suivie d'une cyclisation pour donner un nouveau système hétérocyclique ou carboxylique. En revanche, l'introduction de réactifs électrophiles en C3 et C5 maintient la structure pyranique [173].



La grande diversité entre les différents sites actifs du DHA en fait un excellent précurseur polyvalent pour la synthèse d'une large variété de composés hétérocycliques.

Deux travaux récents [173,174], présentent les différentes stratégies synthétiques conduisant à divers composés hétérocycliques azotés, oxygénés et sulfurés, inclus dans les squelettes de divers systèmes poly-hétérocycliques. Pour notre part nous présentons ci-après :

- la réactivité du DHA en présence des aldéhydes aromatiques
- l'essentiel des plus récentes voies de synthèse de structures azotées classées sur le nombre de chaînons du cycle azoté,
- la synthèse de structures azotées porteuses d'un atome de soufre essentiellement obtenues à partir de thioamide et thiocarbamide.

### I-3-2-1 Réactivité du DHA Vis-à-vis des aldéhydes

La condensation de l'acide déhydroacétique **4** avec des aldéhydes aromatiques est considéré comme un bon procédé de préparation de dérivés cinnamoyles et chalcones de DHA.

Ainsi, la condensation du DHA avec divers aldéhydes aromatiques portant une fonction acétylique catalysée par la pipéridine dans le chloroforme par une condensation de *Claisen-Schmidt*, conduit à des cinnamoyles de DHA (Schéma I-41) [175-176,128].

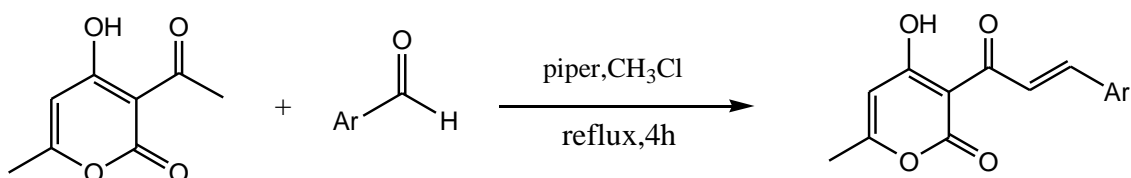


Schéma I-41 : Synthèse de cinnamoyles de DHA

Par ailleurs, la condensation de DHA-bromurephosphonium [177] avec le 4-méthoxycinnamaldéhyde donne un dérivé conjugué [178] (Schéma I-42).

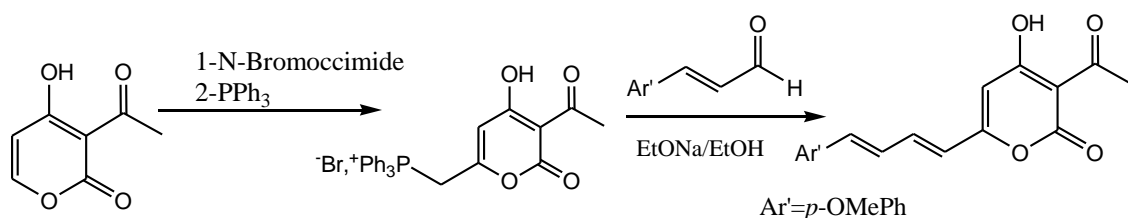


Schéma I-42 : Synthèse de dérivés conjugués à partir de DHA

D'autre part, la condensation de **4** avec deux équivalents de benzaldéhyde en présence d'une petite quantité de N-benzylidèncyclohexylamine porté à reflux dans le toluène

pendant 24 heures, donne un nouveau dérivé doublement condensé (Schéma I-43) [179].

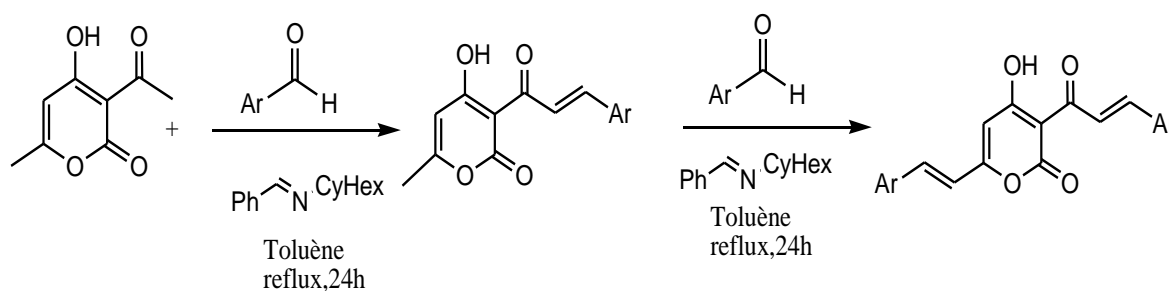


Schéma I-43: Synthèse de dérivés doublement condensé à partir de DHA

Il est important de signaler que la condensation du DHA avec du N,N-diméthylformamidediméthylacétal, dans l'éthanol catalysé par la triméthylamine peut former des énamines [180, 181] (Schéma I-44).

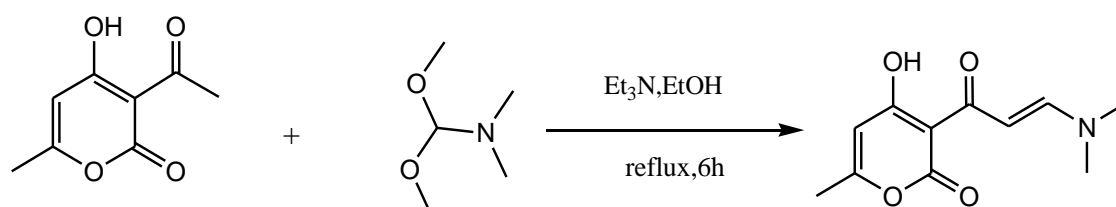


Schéma I-44 : Synthèse des énamines

### 1-3-2-2 Synthèse d'hétérocycles azotés à quatre chaînons

Le traitement de l'acide déhydroacétique avec des amines aromatiques primaires substituées a donné, par irradiation micro-ondes, de nombreuses bases de Schiff. Ces bases sont par la suite irradiées à nouveau avec du diméthylformamide en présence de la triéthylamine et le chlorure de chloroacétyle pour donner finalement des dérivés d'azétidinone (Schéma I-45) [182].

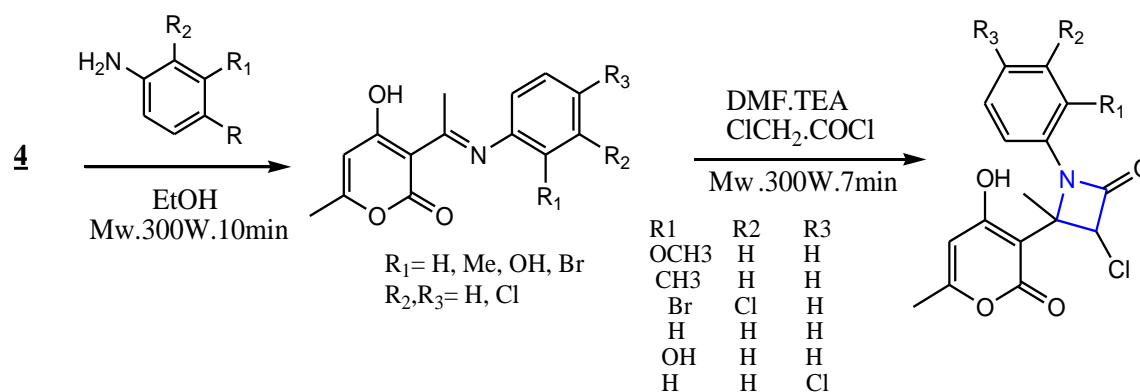


Schéma I-45 : Synthèse des dérivés d'azétidinone

## I-3-2-3 Synthèse d'hétérocycles azotés à cinq chaînons

Pour préparer le dérivé du **pyrrole** ci-après (Schéma I-46). *Fadda et al.* [183] ont fait réagir le chlorhydrate de glycinate avec une énamine de DHA. Le pyrrole obtenu présente un profil anti-microbien.

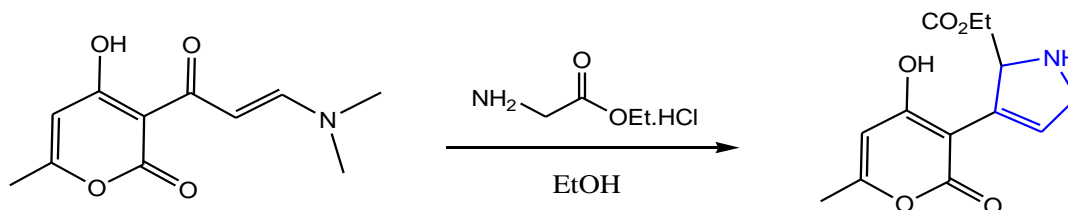


Schéma I-46 : Synthèse de pyrrole au profil anti-microbien.

La réaction de cinnamoyles de DHA avec du nitrométhane en présence de plus d'un équivalent de 1,1,3,3-tétraméthylguanidine (TMG) donne les composés nitrés correspondants. La réduction chimio sélective de la fonction nitro de cet intermédiaire en présence du nickel de *Raney*, conduit à des dérivés **pyrrole** de type 2-(4-arylpyrrolidin-2-ylidène) [184] (Schéma I-47).

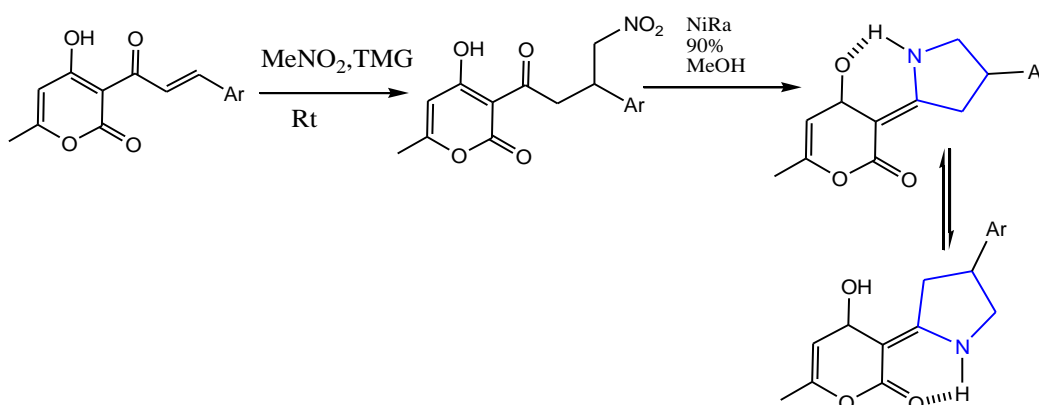


Schéma I-47 : Synthèse du 2-(4-arylpyrrolidin-2-ylidène)

Les hydrazines représentent la pièce maîtresse pour la synthèse de **pyrazoles** et **bipyrazoles** à partir du DHA. Diverses voies de synthèses ont été rapportées, dont certaines permettent d'obtenir cette structure par ouverture du cycle pyranique. Le schéma ci-après regroupe un nombre de réactions permettant l'accès à ce motif avec l'essentiel de leurs conditions opératoires [185-191].

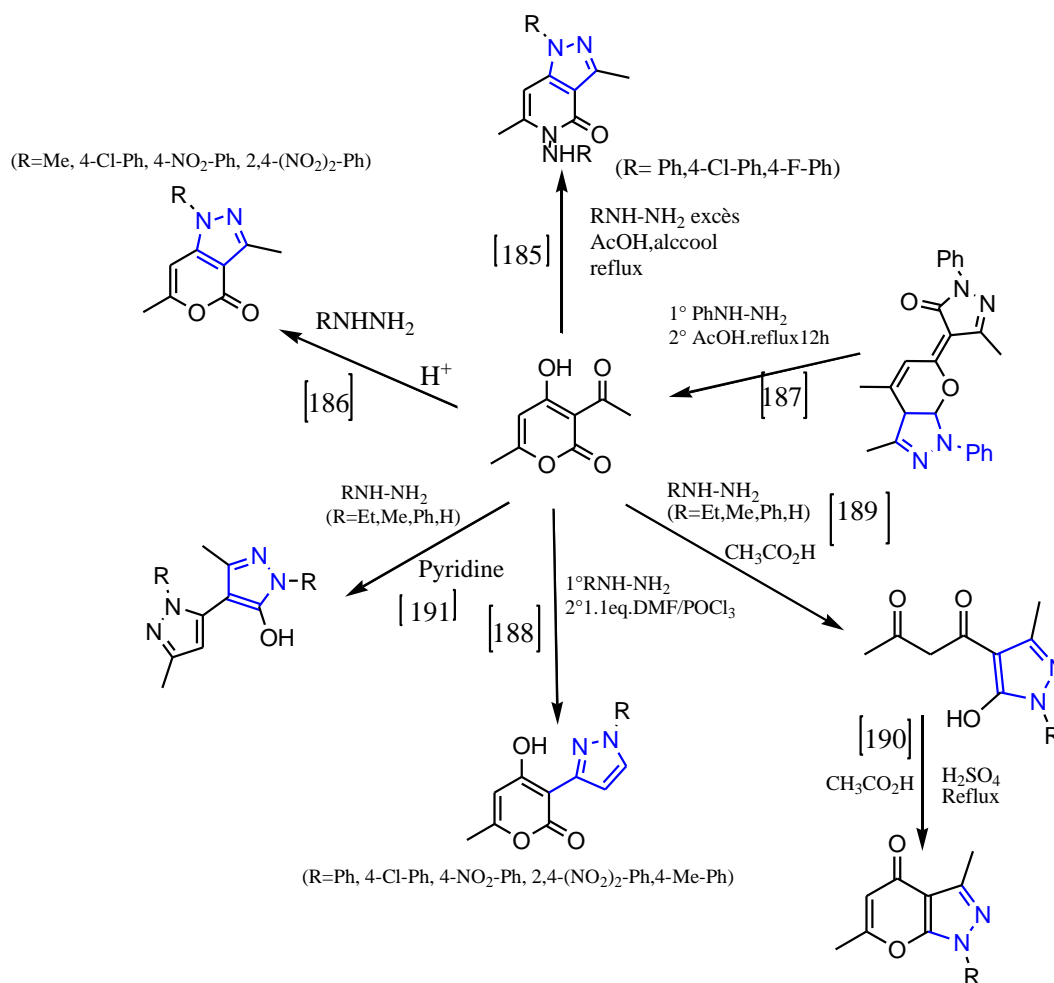


Schéma I-48 : Synthèses de pyrazoles et bipyrazoles

Le 3-cinnamoyl-4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyranes traité avec des arylhydrazines conduit à la 1,5-diphényl-3-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)-2-pyrazoline. L'oxydation induite de cette dernière par le diacétate d'iodobenzène (IBD) a donné accès aux **pyranilpyrazoles** correspondant avec des rendements variant entre 72 à 78% (Schéma I-49) [192].

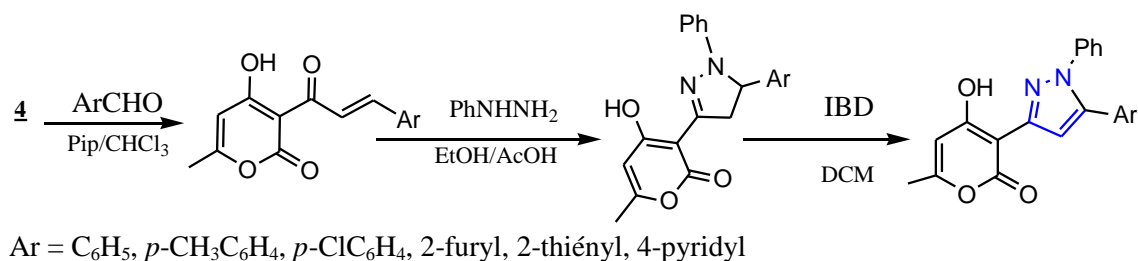


Schéma I-49 : Synthèse des pyranilpyrazoles

Le développement de **pyranopyrazoles** par l'utilisation de nouveaux dérivés obtenus par la réaction de la 3-acétyl-4-chloro-6-méthylpyran-2-one avec des hydrazines substituées a été rapporté.

Le noyau pyran-2-one des pyranopyrazoles obtenus a été identifié *in vitro* en tant que modèle d'anneau central approprié pour concevoir des inhibiteurs sélectifs de la COX-2.

De plus, l'analyse *in vivo* a révélé que ceux dont R = *p*-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, *p*-OCH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-méthyl-2-quinolyl présentent un double profil analgésique et anti-inflammatoire (Schéma I-50) [193].

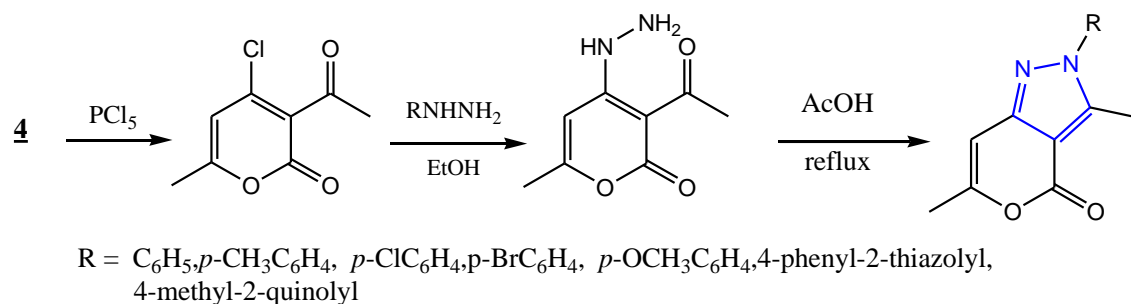


Schéma I-50 : Synthèse de pyranopyrazoles à activité biologique.

L'obtention des **imidazoles** et **benzimidazoles** à partir de DHA a de même été rapportée dans un nombre de travaux [125-126,194] dont les récentes réactions ci-après, sont présentées à titre indicatif

La condensation d'un mélange équimolaire de 3-(2-bromoacétyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one obtenue par la bromation de **4** dans des conditions acides [195-196], avec divers aldéhydes aromatiques, la benzylamine et l'acétate d'ammonium dans l'alcool absolu a donné des dérivés **imidazole** (schéma I-51) avec de bons rendements variant de 70 à 90% [197].

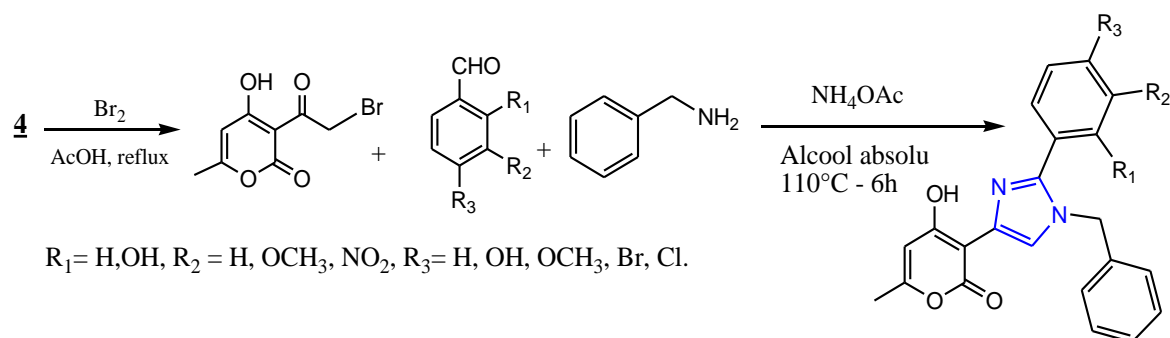


Schéma I-51 : Synthèse de dérivés imidazoles

Depuis peu, *K.Bouayad* et al. ont mis en évidence la synthèse de la 6-bromo-2-méthyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine par l'action de la bromopyridine-2,3-diamine sur le DHA [122] (Schéma I-52).

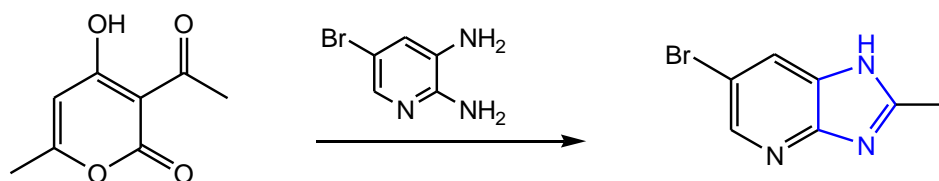


Schéma I-52 : Synthèse de la 6-bromo-2-méthyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine

### 1-3-2-4 Synthèse d'hétérocycles azotés à six chaînons

Le DHA traité avec l'ammoniac aboutit à la 1,2,6-triméthylpyridine-4(1*H*)-one qui, après réduction avec le Ni, donne le 1,2,6-triméthylpiperidin-4-ol. L'oxydation de *Sweren* en présence du DMSO / oxalyl chlorure a permis d'accéder à la **pipéridine** correspondante [198] (Schéma I-53).

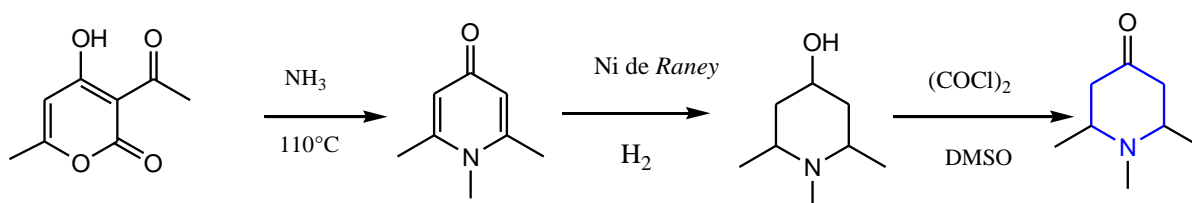


Schéma I-53 : Synthèse de la piperidine

Les énaminones de DHA peuvent être transformées en **pyrranopyridine** par une réaction avec l'hydroxylamine [199] (Schéma I-54).

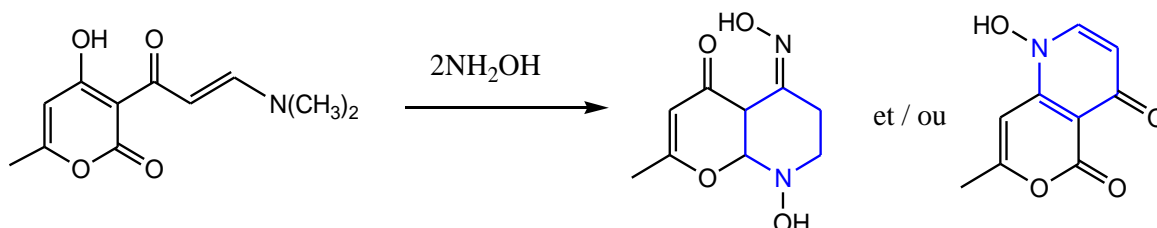


Schéma I-54 : Synthèse de la pyrranopyridine

Les mises en réaction des même énaminones obtenues sans solvant à partir du DHA et le *N,N*-diméthylformamide diméthylacétal avec des composés méthyliques actifs ont permis d'obtenir les **pyrranylpyridines** ci-après [200].



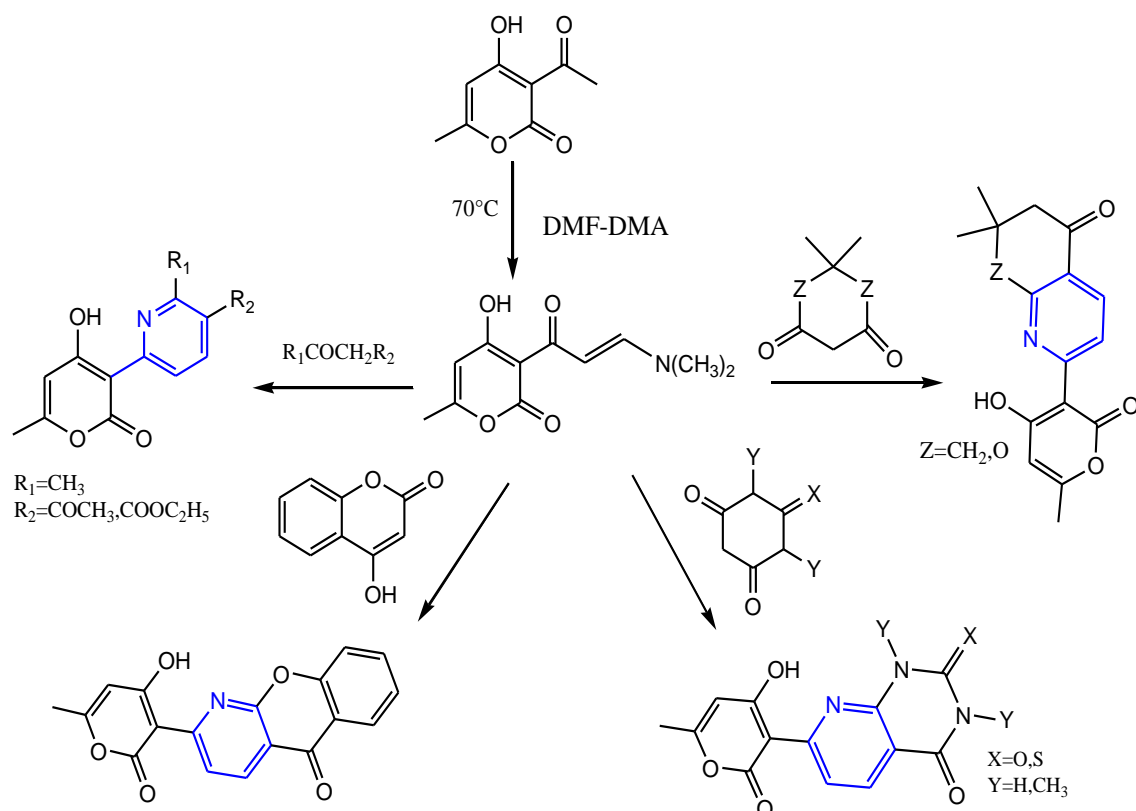
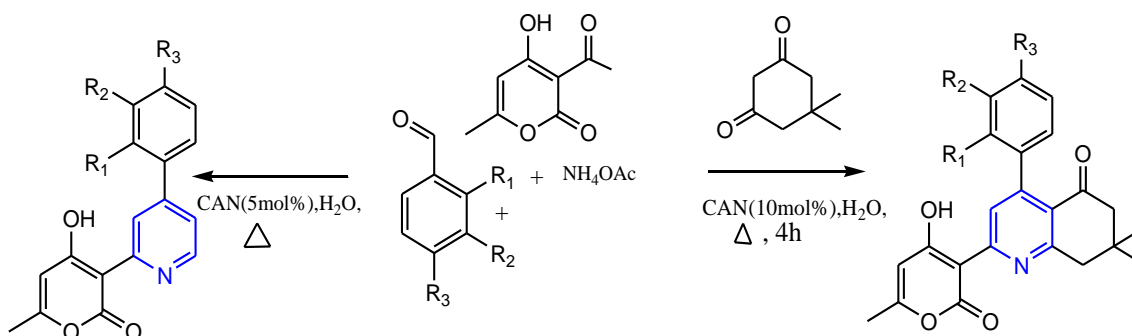


Schéma I-55 : Synthèse des pyrranylpyridines

Dans des conditions douces et efficaces, une variété de dérivés de la **pyridine** a été développée avec d'excellents rendements, via une réaction de *Hantzsch* de l'acide déhydroacétique avec les aldéhydes et l'acétate d'ammonium catalysée par une petite quantité de nitrate d'ammonium cérique (CAN) en milieu aqueux [201].

De même, récemment, des dérivés de 4-aryl-2-pyrranyl-7,8-dihydroquinolin-5(6H)-one ont été obtenus avec d'excellents rendements à partir des mêmes réactifs en plus du diméthylcyclohexane-1,3-dione.

L'activité antibactérienne *in vitro* des composés nouvellement synthétisés a été évaluée. Certains des composés testés ont montré une activité antibactérienne [131] (Schéma I-56).



R1 = H, OH; R2 = H, OCH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>; R3 = H, OH, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, Cl, Br, NO<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Schéma I-56 : Synthèse des dérivés 4-aryl-2-pyran-5(6H)-one à activité bactérienne .

Un acide carboxylique porteur d'un noyau **pyradizine** est obtenu à partir de la 4-hydroxy-6-méthylpyran-2-one et du benzenediazonium chlorure substitué en présence du carbonate de sodium aqueux ; le chauffage de l'intermédiaire obtenu dans le HCl entraîne la formation de l'acide 1,4-dihydro-6-méthyl-4-oxo-1'acide arylpyridazine-3-carboxylique [202] (Schéma I-57).

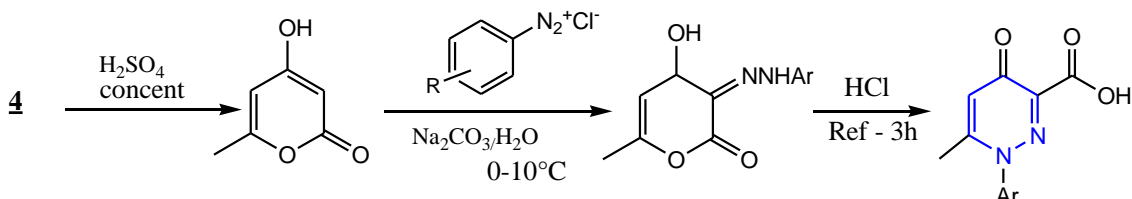
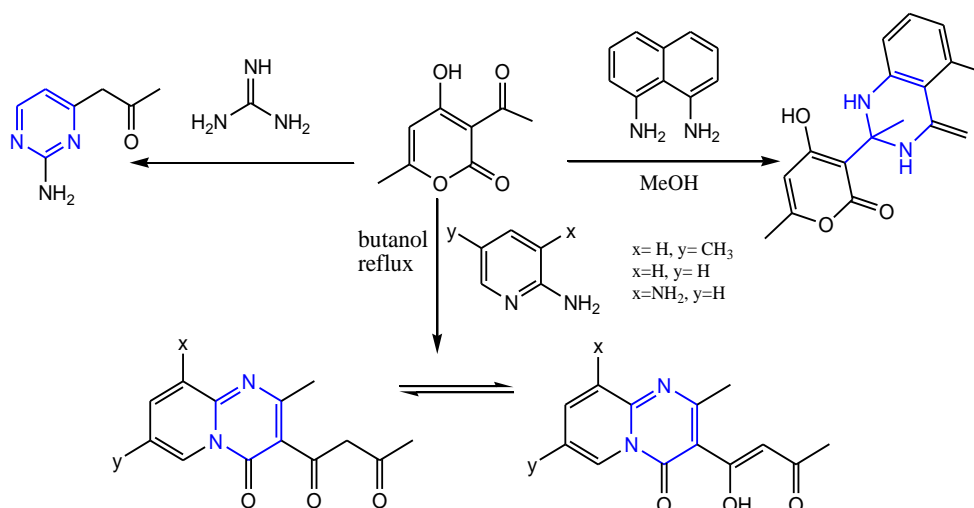


Schéma I-57 : Synthèse de l'acide 1,4-dihydro-6-méthyl-4-oxo-1'acide arylpyridazine-3-carboxylique

La condensation du 1,8-diaminonaphtalène avec **1** pendant trois heures aboutit aux **1,3-diazines** correspondantes [203]. De plus, le DHA peut également être converti en dérivés **pyrimidine** par son traitement avec la guanidine [204,205].

De même la synthèse de dérivés **pyridopyrimidine** par l'action de pyridine substituée sur le DHA à reflux dans le butanol a été rapporté [206,207] (Schéma I-58).

Schéma I-58 : Synthèse de dérivés **pyridopyrimidine**

*Hikem-Oukacha* et al. rapportent la bromation du DHA dans l'acide acétique dans une première étape puis avec l'orthophénylènediamine substituée dans une seconde étape afin d'accéder aux **pyranoquinoléines** correspondants, comme ils rapportent la synthèse de **pyradizine** : la 1-(2,4-dinitrophényl)-7-méthyl-2,3-dihydro-1H-pyrano [4,3-c]pyridazine-4,5-dione par action en deuxième étape du 1-(2,4-dinitrophényl)hydrazine [195] (Schéma I-59).

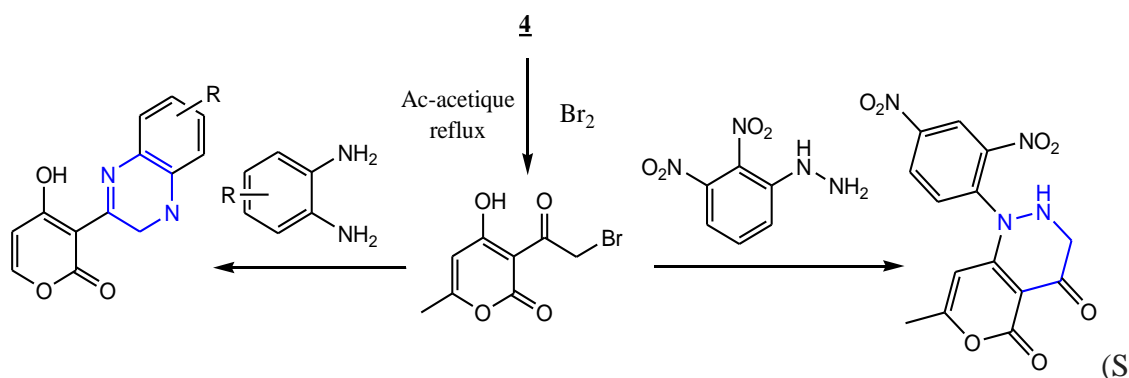


Schéma I-59 : Synthèse de pyranoquinoléines et de pyradizine

### 1-3-2-5 Synthèse d'hétérocycles azotés à sept chaînons

Les **benzodiazépines** sont une classe de composés hétérocycliques à grand intérêt thérapeutique ; c'est pourquoi, la synthèse de 1,5-benzodiazépine à partir de DHA a été largement expérimentée.

Ainsi, la condensation d'une mole d'*o*-phénylènediamine avec une mole d'acide déhydroacétique dans divers alcools (MeOH, EtOH, PrOH, iPrOH, BuOH) donne un

mélange de quatre produits [208] dont une benzodiazépine qui a été séparée par chromatographie sur colonne de silice.

Le traitement de la même réaction dans le xylène à reflux pendant deux heures a permis l'accès à une diazépnone. L'utilisation de deux moles d'*o*-PDA conduit au mélange d'une benzodiazépinone majoritaire avec un rendement de l'ordre de 78%, un benzimidazole et une benzimidazolone.

Un excès accru d'*o*-phénylènediamine donne les produits sus-cités et une imino-benzodiazépinone ; cette dernière conduit, après chauffage, en présence d'acide à la 4-méthylbenzodiazépin-2-one correspondante (Schéma I-60) [209-210].

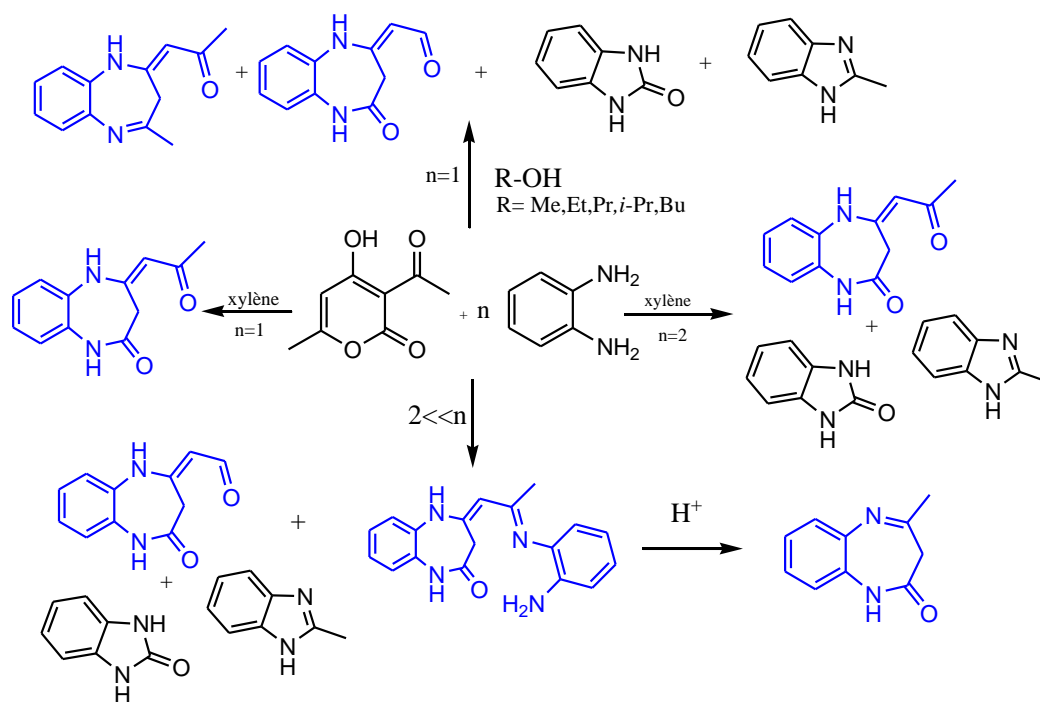


Schéma I-60 : Synthèse de benzodiazépinones

L'halogénéation de l'acide déhydroacétique en présence de  $\text{POCl}_3$  conduit, après une réaction de condensation avec l'*o*-phénylènediamine, aux pyrano-1,5-benzodiazépinones [211] (Schéma I-61).

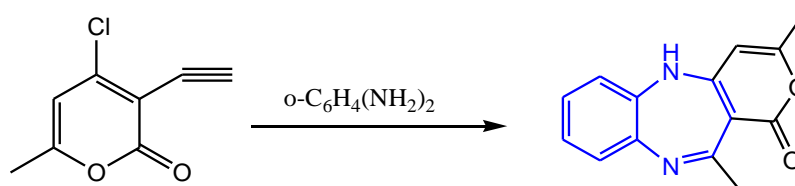


Schéma I-61 : Synthèse de benzodiazépinones en présence du  $\text{POCl}_3$

L'action de l'orthophénylènediamine sur les cinnamoyle, dérivés de l'acide déhydroacétique, aboutissait aux composés de pyranobenzodiazépine [212] (Schéma I-62).

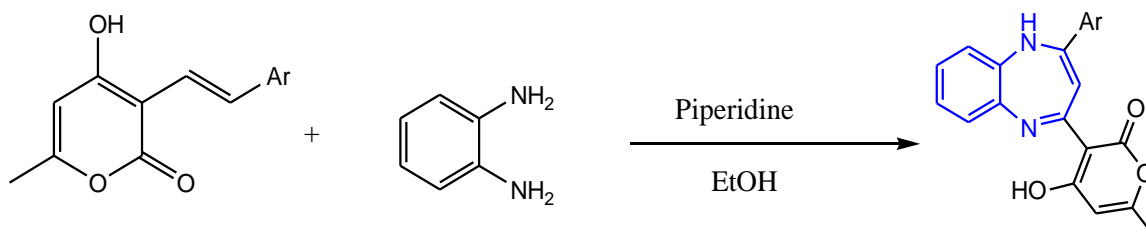


Schéma I-62 : Synthèse de pyranobenzodiazépine

Des études récentes se sont intéressées à la stéréochimie de quelques 1,5-pyranobenzodiazépines. *Rabahi* et al. ont ainsi mené une étude mécanistique appuyée par analyse RMN 2D à l'état liquide monocristallin, la diffraction aux rayons X ainsi que des calculs théoriques ; ce qui a permis la classification de deux forme tautomères : A (énaminopyran-2,4-dione) et B (imino-4-hydroxypyran-2-one) sans aucune ambiguïté. Ce qui prouve que la plupart des structures benzodiazépine provenant de DHA adoptent préférentiellement la forme (E) -aminaminopyran-2,4-diones A (Schéma I-63) [213].

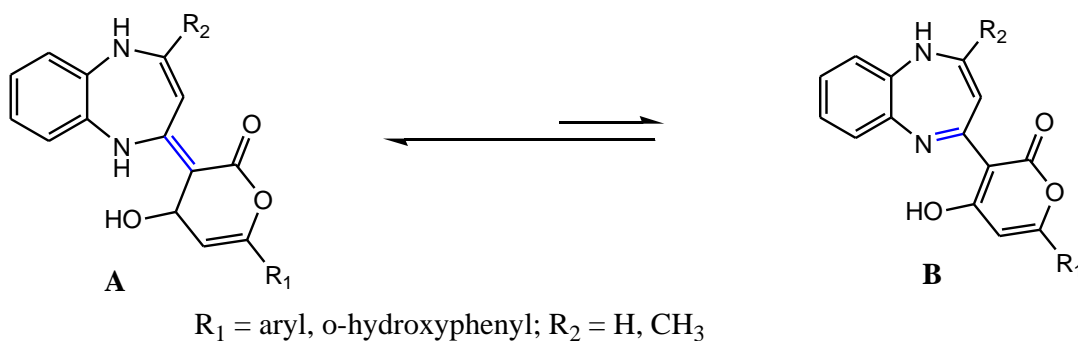


Schéma I-63 formes tautomères de quelques 1,5-pyranobenzodiazépines

La synthèse d'une série de 1,5-benzodiazépines électro-actives portant soit un noyau ferrocène ou tétrathiafulvalène, agissant comme fragment électro actif, a été rapportée. La capacité donneuse d'électrons de ces redox 1,5-benzodiazépines actives a été décrite, leurs structures moléculaires, étudiées par des études de diffraction rayons X.

Les résultats de ces dernières ont révélé que les cycles diazépines adoptent la forme énamine en raison de la liaison hydrogène intramoléculaire entre le N-H de l'énamine et

le carbonyle de DHA. En raison de la présence de électrophore tétrathiafulvalène ou ferrocène (SchemaI-64) [214].

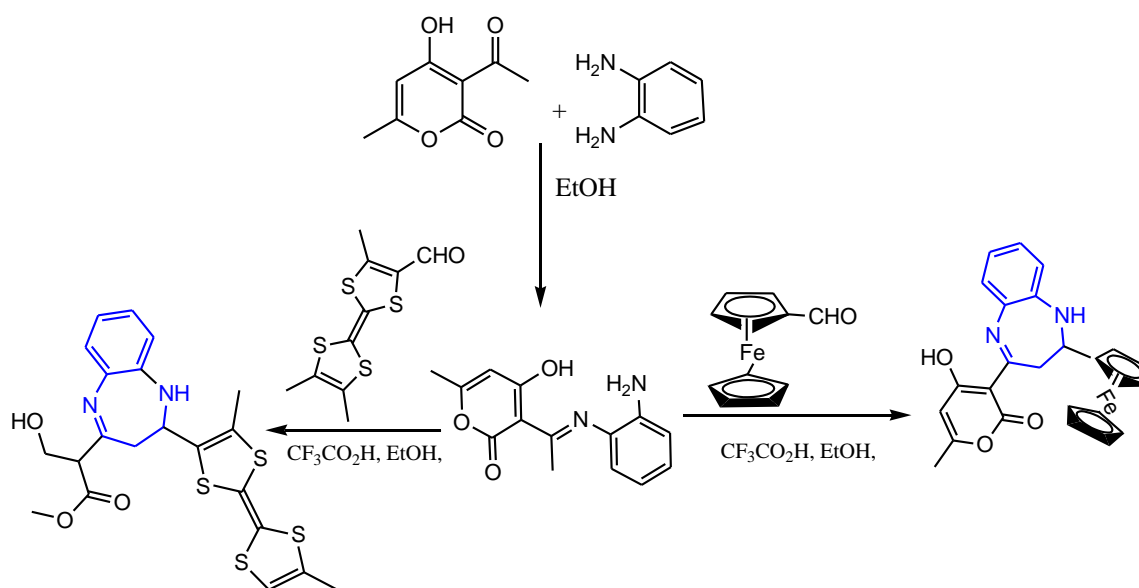


Schéma I-64 : Synthèse d'une série de 1,5-benzodiazépines électro-actives

### I-3-3 Action des thioamides et thiocarbamides sur le DHA :

L'étude des hétérocycles azotés porteurs d'un atome de soufre a largement été rapportée compte tenu de leurs intérêts. La synthèse de noyaux thioaminés à partir du DHA est souvent obtenue à partir de divers composés en particulier, les thioamides, la thiouré, la thiosemicarbazide et les aminothiophénols.

#### *Action du thiosemicarbazide sur le DHA :*

Le thiazolylhydrazone obtenue à partir de DHA et de thiosemicarbazide dans l'éthanol à reflux a permis d'obtenir des structures thiazoles par sa mise en réaction avec du bromure<sup>1</sup>, ou du chlorure<sup>2</sup> de phénacyle et de l'acétate de sodium dans éthanol[215]. Comme elle a permis l'accès à des dérivés thiazidiques en présence de 2-bromopropionate d'éthyle<sup>3</sup>, de bromoacétate d'éthyle phényle<sup>4</sup> ou de dérivés maléimidiques<sup>5</sup> [130] (Schéma I-65).

Les thiazoles obtenus en présence du bromure<sup>1</sup>, ou du chlorure<sup>2</sup> de phénacyle peuvent réagir avec l'hydrazine [216] ou avec le chlorhydrate d'hydroxylamine [217] dans un mélange d'éthanol et d'acide acétique pour donner des composés tricycliques correspondants (Schéma I-65).

La bromation de **4** par le bromure d'hydrogène (HBr), le dibrome ( $\text{Br}_2$ ), ou avec un excès de dibrome dans le chloroforme et en présence d'une quantité catalytique d'iode, fournit le tribromo-DHA. Ce nouveau composé a été traité avec le thiocarbamide et a donné avec de bons rendements des dérivés thiazolyl-pyranniques (Schéma I-65) [218].

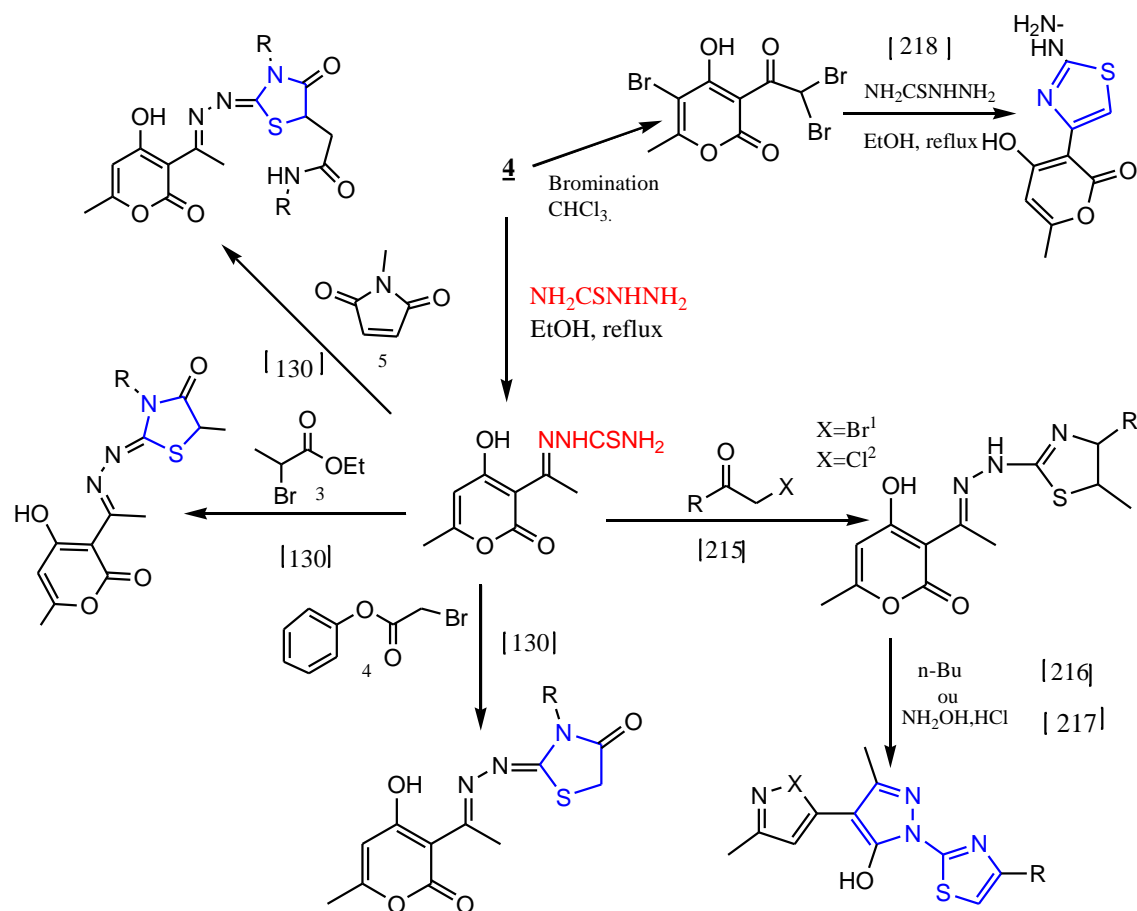


Schéma I-65 : Synthèse à partir de DHA en présence du thiosemicarbazide

Par une synthèse en une seule étape simple, rapide, efficace et respectueuse de l'environnement de Hantzsch-Thiazole des dérivés thiazoles<sup>1</sup> et thiazolyl-pyrazole<sup>2</sup> ont été obtenus avec de très bons rendements de l'ordre de (78 à 92%) par la condensation du 3-(2-bromoacétyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, la thiosemicarbazide et divers composés carbonyles [219] (Schéma I-66).

De même, les 4-(2-arylhyaazono) -1-(4-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl) thiazol-2-yl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5(4H)-one ont été obtenus en une seule étape en présence des 2-(2-arylhyaazono) -3-oxobutanoates d'éthyle dans l'éthanol anhydre [220].

Une étude récente rapporte la synthèse d'une série substituée de thiazolyl-pyrrazole avec de bons rendements à partir de la condensation du mélange 3-(2-bromoacétyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, thiosemicarbazide et des dérivés de la 3-(acétoacétyl) coumarine dans l'éthanol anhydre (Schéma I-66) [221].

Par ailleurs la mise en réaction du 3-(2-bromoacétyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, la thiosemicarbazide et divers composés carbonylés peut de même donner accès à des dérivés 1,3,4-thiadiazin-5-yl-pyran-2-one avec de bons rendements de manière simple, rapide et en une seule étape [222] (Schéma I-66).



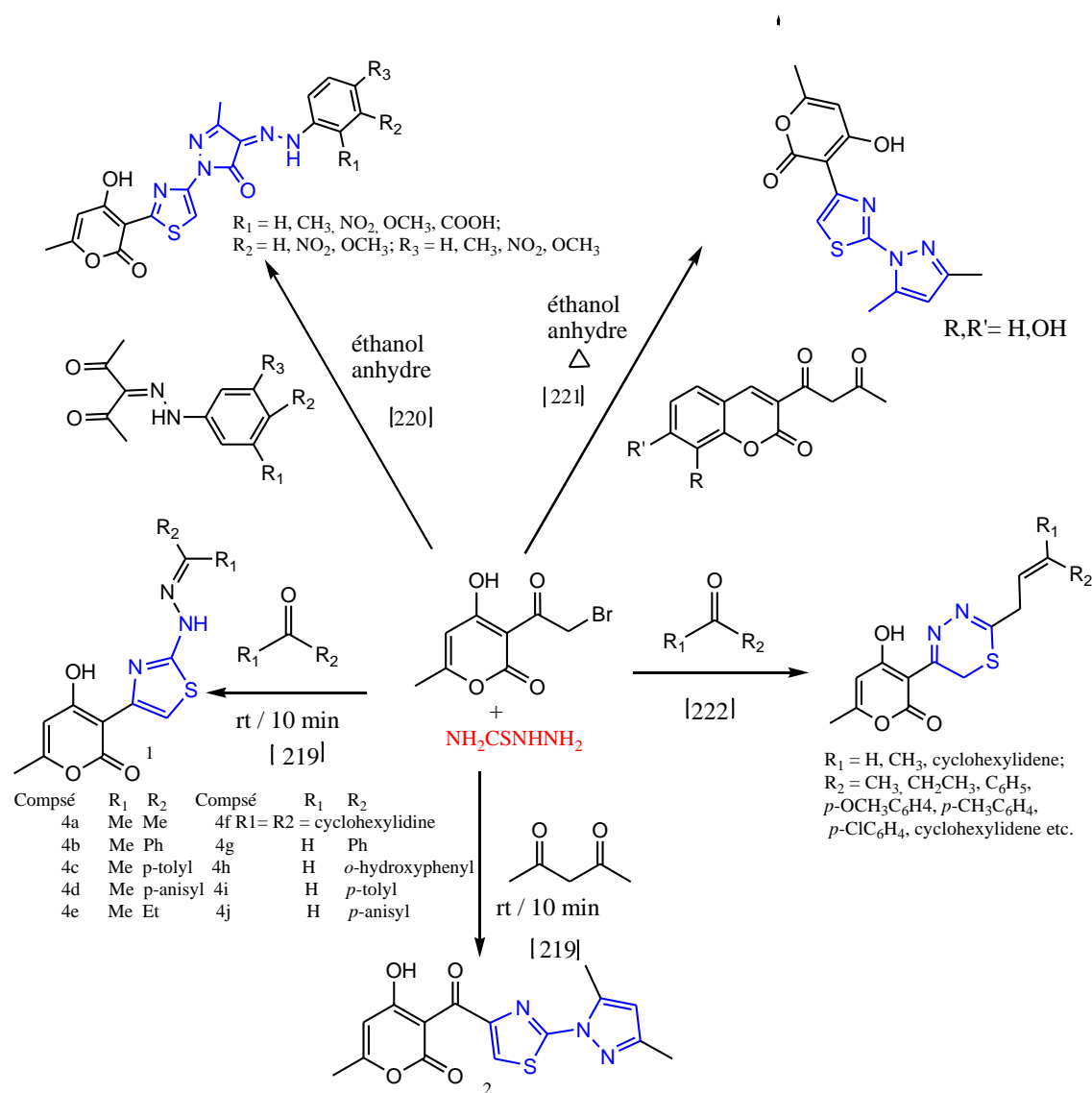
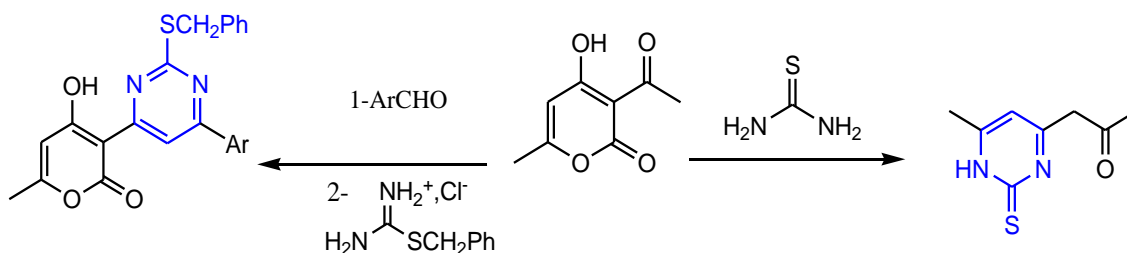


Schéma I-66 : Synthèse à partir de DHA en présence du thiosemicarbazide

*Action de thiourée et thioamides sur le DHA.*

Le DHA peut être converti en dérivés de **pyrimidine** par traitement avec la thiourée [205]. Comme il a été décrit la synthèse de pyrimidines originales obtenues à partir de l'acide déhydroacétique, les aldéhydes et le chlorure de S-benzylisothiuronium (SBT). Ces composés portant une chaîne latérale pyronyle en position 4 ont été testés pour leur activité anti-microbienne potentielle. Les composés dont (Ar= F-Ph, thienyl, pyridyl) ont montré une légère activité contre les bactéries *Bacillus subtilis* [223] (Schéma I-67).



Ar= Ph, 4-FluoroPh, 3-ChloroPh, 4-BromoPh, 4-Hydroxy-3-ethylPh, 3-Methoxy-4-hydroxyPh, 4-DiméthylaminoPh, 4-DiéthylaminoPh, 2-Thiophene, 4-Pyridyl

Schéma I-67 : Action de thiourée et thioamides sur le DHA

Le composé obtenu par la bromation de **4** dans le chloroforme et en présence du trichlorométhane a été traité avec diverses thiourées substituées et thioamides et a donné de bons rendements, variant de 68 à 74%, des dérivés thiazolyl-pyraniques (schéma I-68) [224].

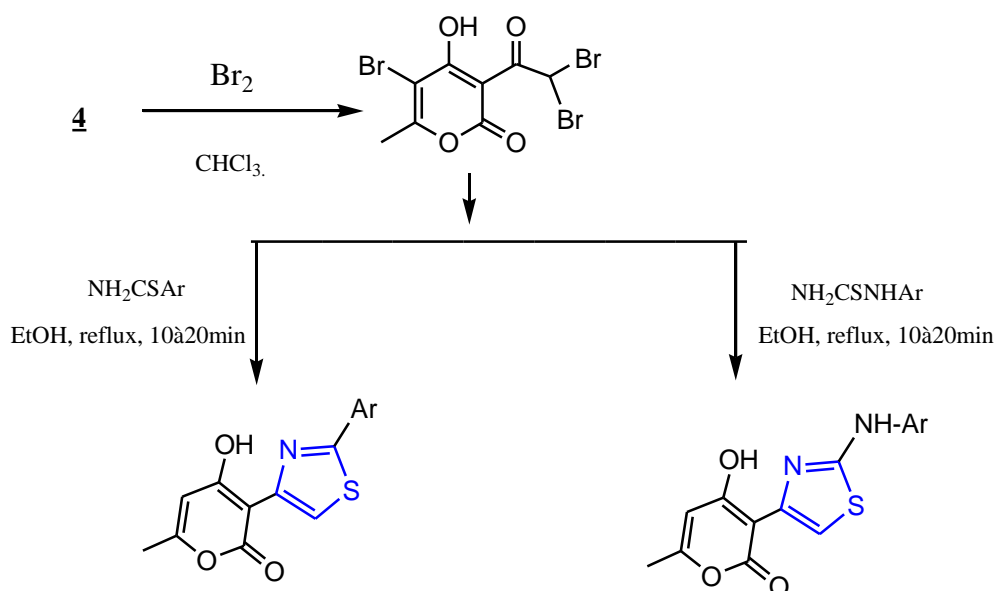


Schéma I-68 : Synthèse des dérivés thiazolyl-pyraniques

Une méthode efficace et écologique a été développée par chauffage conventionnel ou sous irradiation ultrasonique de la 3-(bromoacétyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one, de la thiourée et du benzaldéhyde, en présence d'acide tungstosilicilique supporté sur de la silice, en tant que catalyseur réutilisable, des dérivés de *Hantzsch* thiazole ont été obtenus avec des rendements de 79% à 90%.

Le catalyseur est récupérable par une simple filtration et peut être réutilisé dans des réactions à venir. La plupart des thiazoles ont montré une activité antibactérienne

comparée à la ciprofloxacine comme témoins positifs. Ces nouveaux composés ont de même montré une activité antioxydante de modérée à bonne devant les radicaux libres de la DPPH [225] (Schéma I-69).

De 4-hydroxy-6-méthyl-3-(2-substitués-thiazol-4-yl)-2H-pyran-2-ones ont été préparées à partir de la réaction du 3-bromoacétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one avec des thioamides, la thiourée, le thiosemicarbazide et la phénylthiocarbazone via trois méthodes. La première (1) consiste en une réaction de *Hantzsch* classique par le chauffage à reflux d'une solution équimolaire de 3-bromoacétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one avec des thioamides, de la thiourée ou de la phénylthiocarbazone dans l'éthanol. L'irradiation par micro-ondes a été utilisée comme alternative au chauffage dans la deuxième (2) et troisième méthode (3) soit sans solvant ou par l'utilisation d'un support solide d'oxyde d'aluminium neutre qui a été imprégné avec les thioamides appropriés, la thiourée et la phénylthiocarbazone.

Bien que les trois méthodes aient produit le même composé solide, le principal avantage de l'irradiation par micro-ondes était le raccourcissement du temps de réaction (Schéma I-69) [226].

De même, *Swamy* et al. rapportent la synthèse de la 2,3-[4-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)-1,3-thiazol-2-yl]-1,3-thiazolidin-4-one par cyclisation en présence d'acide thioglycolique et du chlorure de zinc des bases de shift obtenues par l'action des aldéhydes aromatiques. Ainsi que la synthèse de piperazine porteuse de noyau thiazolique par action de la pipérazine substituée sur le thiazolylacétamide obtenu en présence du 2-chloroacétylchlorure. Ces composés synthétisés ont été criblés pour l'activité anticancéreuse *in vivo* (Schéma I-69) [227].

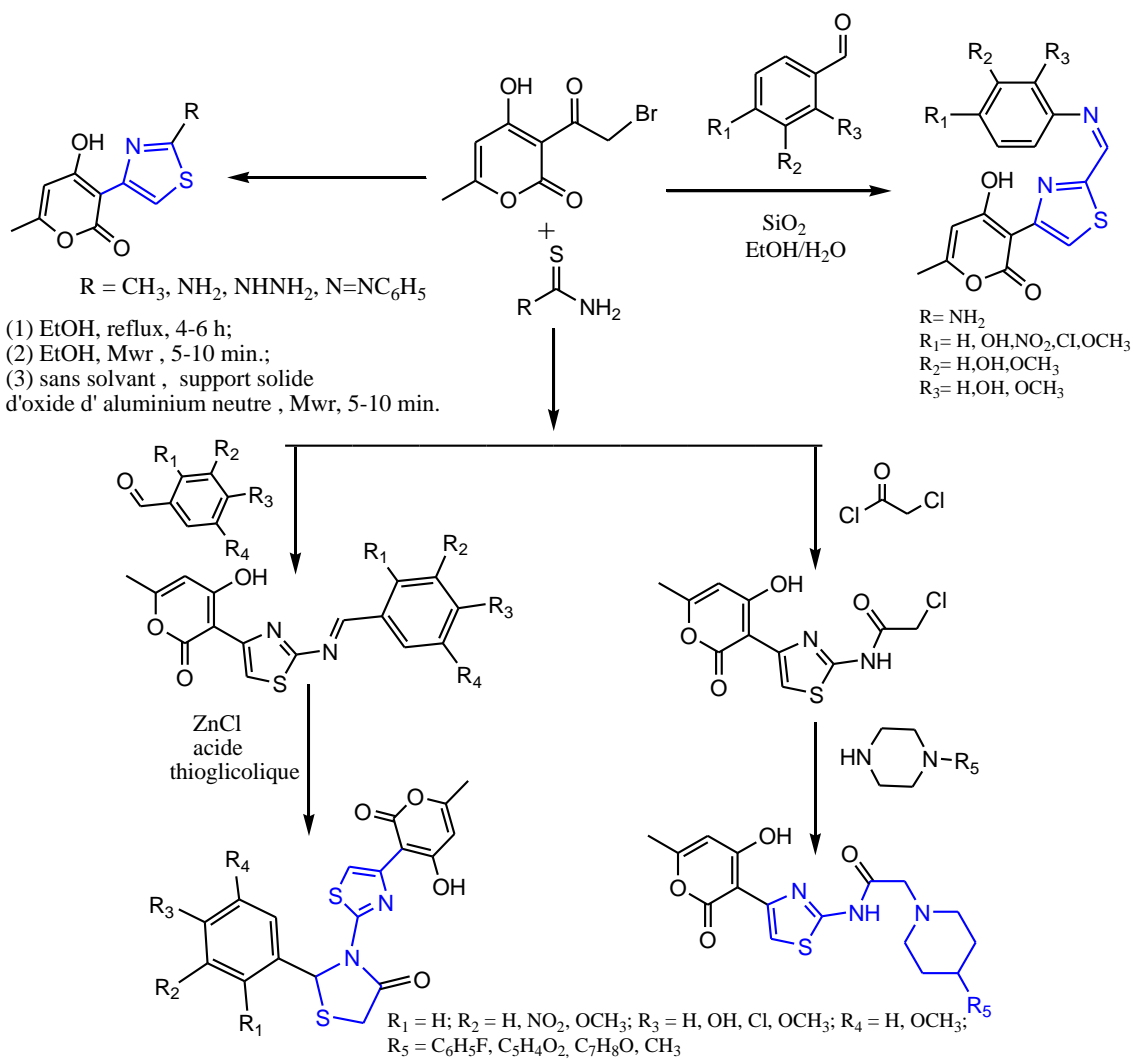


Schéma I-69 : Synthèse à partir de DHA bromé.

### I-4 Les travaux de notre laboratoire à partir de l'ABL et du DHA

La synthèse d'hétérocycles à partir de motifs simples et peu coûteux a toujours été notre souci majeur. Toutes les molécules que nous avons obtenues sont de tailles variant entre cinq et sept chaînons et à fonctions diverses

Des voies d'accès simples à des 1,5- benzodiazépines en partant des cétimines de DHA par l'utilisation de la fonction amine résiduelle de ce composé a permis d'accéder à un motif dihydrobenzodiazépine à partir des benzaldéhydes substitués en deux étapes (voies b, c) avec de très bons rendements variant de 64 à 88%

Des 1,5- benzodiazépines porteuses d'un résidu pyronique ont de même été obtenues cette fois en une seule étape avec des rendements de 36 à 52% selon une voie de synthèse différente mettant en réaction le DMF-DMA ou le DMA-DMA (voie b') [121] (Schéma I-70).

En revanche, la (voie d) décrit la formation des structures pyranooxazinones à partir du triphosgène, obtenues avec des rendements variant de 45 à 65% [228] (Schéma I-70).

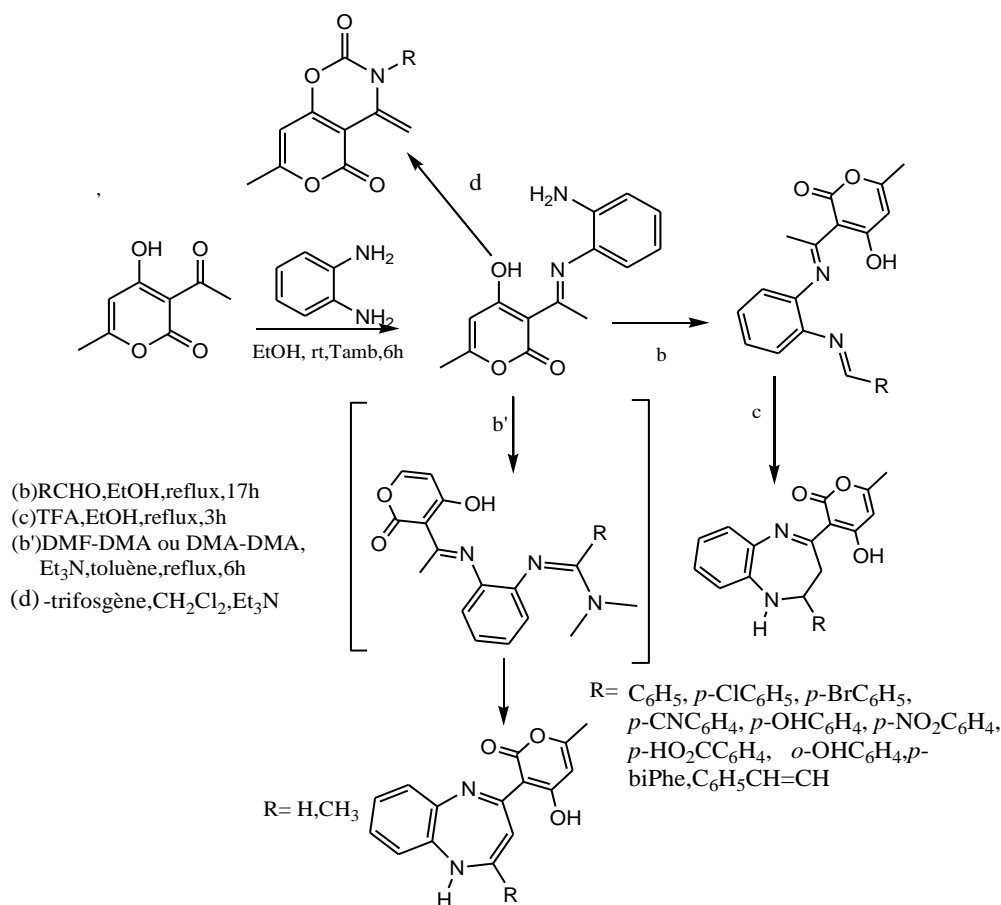


Schéma I-70 : Synthèse de structures 1,5-benzodiazépines

Le comportement de l'acide déhydroacétique et de son homologue hydrogéné en C5-C6 vis-à-vis de 1,2-diamine aliphatique a fait l'objet d'une étude par l'addition goutte à goutte d'un équivalent de 1,2 diamine aliphatique à une solution méthanoïque de deux équivalents de DHA ou de son homologue hydrogéné en C5-C6 où nous avons observé la formation sélective des imines correspondantes porteuses de deux résidus pyrones (Schéma I-71).

En revanche, l'addition d'un équivalent de DHA ou de son homologue hydrogéné en C5-C6 à une solution méthanolique d'un équivalent de 1,2-diamine aromatique nous a permis d'observer la formation sélective des imines correspondantes [229] (Schéma I-71).

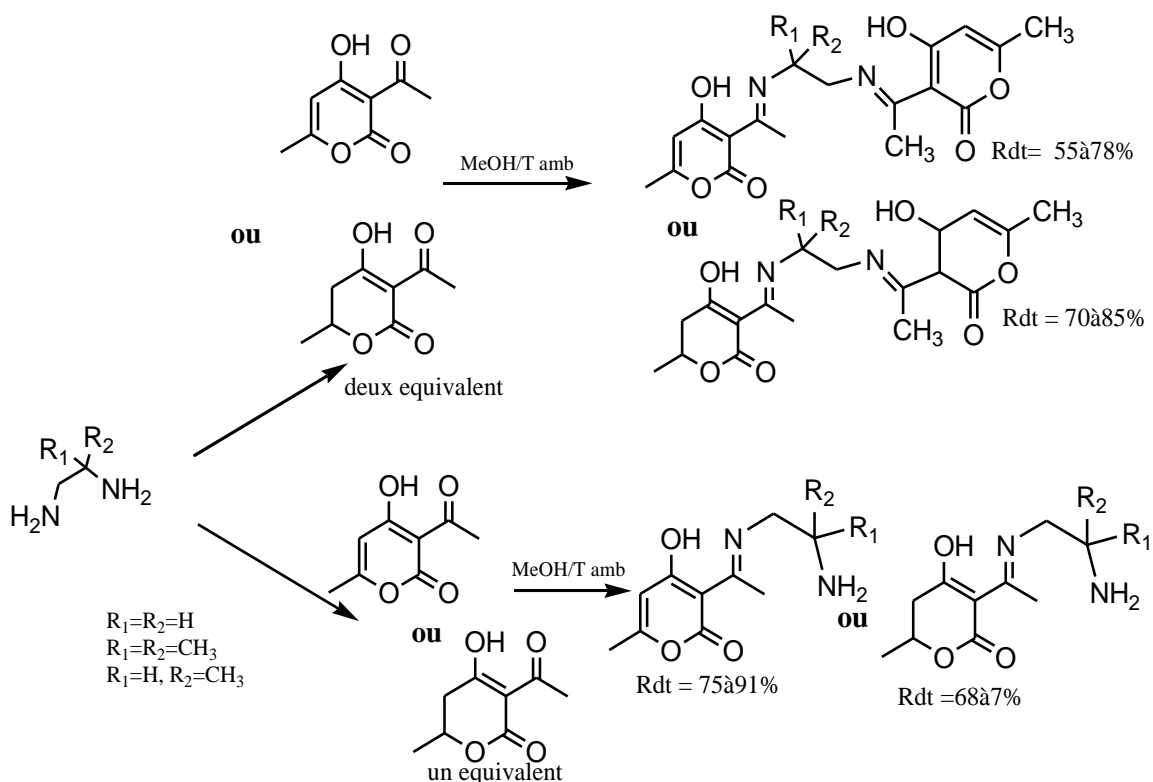


Schéma I-71 : Synthèses en présence de 1,2-diamines aliphatiques

Dans le même ordre d'idées et compte tenu de nos résultats antérieurs [230] et dans le but d'aboutir à la structure pyrano-1,4-diazépine à partir de la réaction de *Mannich* en une seule étape, des cetimines de DHA ont été mises en réaction avec quelques

aldéhydes aromatiques dans l'éthanol à reflux, en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique concentré [231] (Schéma I-72).

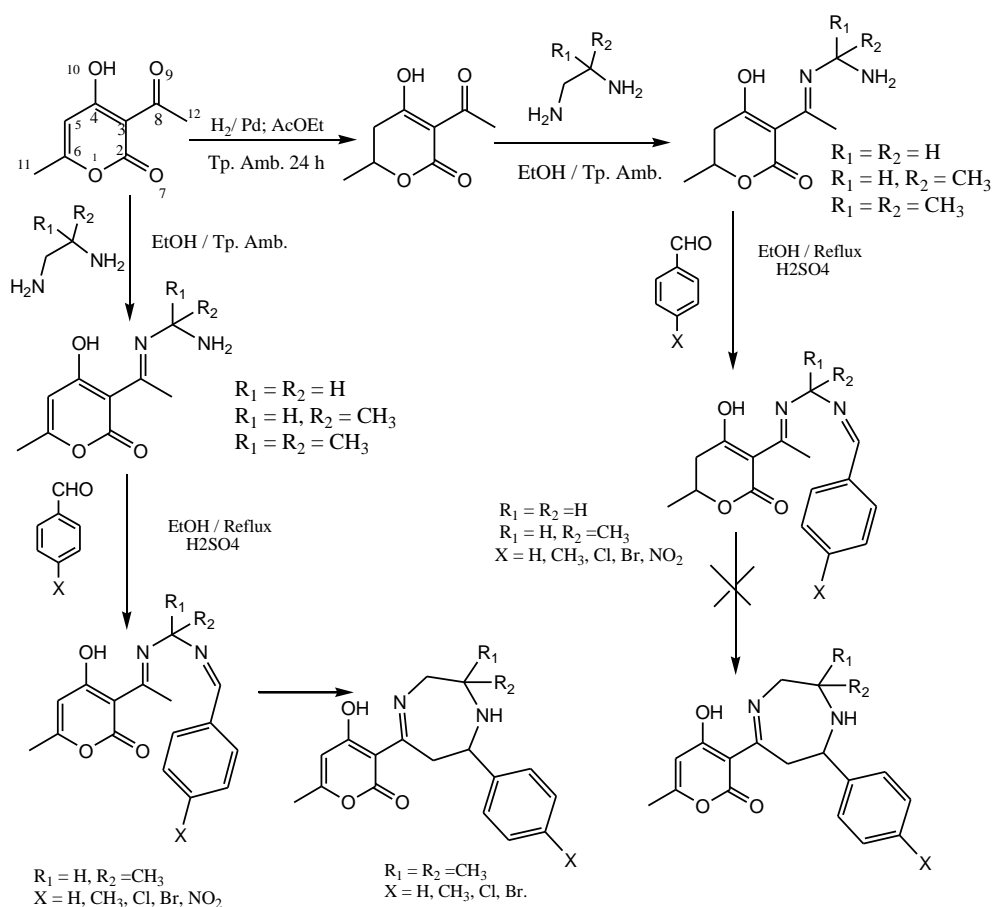


Schéma I-72 : Synthèse de structures pyrano-1,4-diazépines

L'exploitation des résultats obtenus précédemment ont tracé une voie d'hétéro-cyclisation intéressante pour obtenir des 1,5-benzodiazépines avec rendements satisfaisants qui varient de 55 à 77% , comme elle a permis d'accéder à une molécule originale de structure énamine [232] (Schéma I-73).

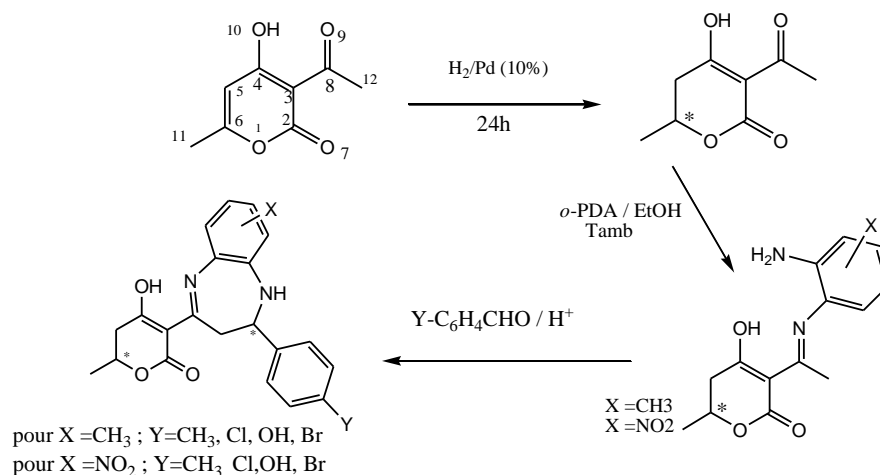


Schéma I-73 : Synthèses des 1,5-benzodiazépines et énamine

Dans une nouvelle approche, les composés du bismuth ont été utilisés. Ces composés sont connus pour être non toxiques, efficaces et faciles à manipuler, et de nombreux catalyseurs au bismuth sont utiles dans la synthèse organique [233].

Ainsi, des structures benzodiazépines ont été obtenues par l'action de cétones de DHA, sur le diméthylformamide-diméthylamine (DMF-DMA) en présence d'acide de bismuth en une seule étape. Cette réaction a engendré des structures benzodiazépines avec des rendements variant de 15 à 68 % [234] (Schéma I-74).

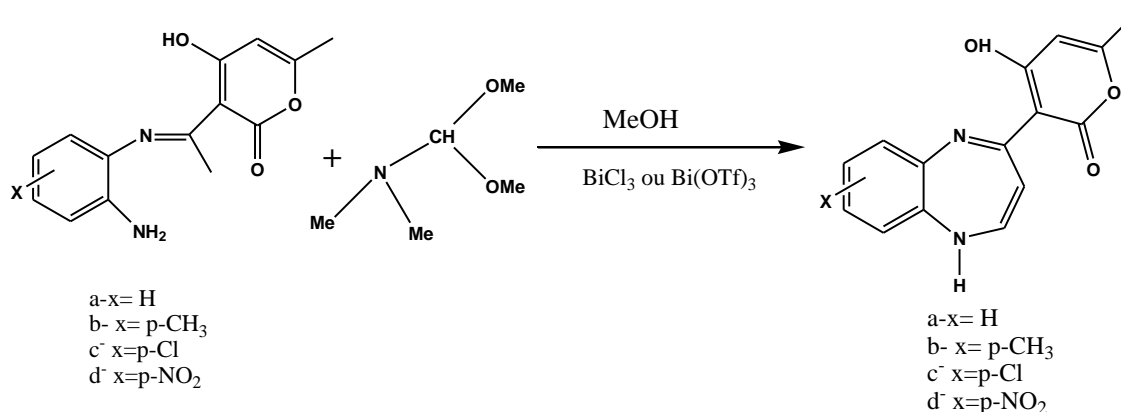


Schéma I-74 : Synthèses de 1,5-benzodiazépines en présence du bismuth

La synthèse d'un 5-méthylimidazole 1,4-disubstitué a été réalisée avec des rendements de 70%, en faisant réagir le toluènesulfonylméthylisocyanide (TosMIC) avec un tautomère énaminique, en présence de quantités catalytiques de triflate de bismuth (III).



Un mécanisme possible impliquant une substitution du tosylé sur l'intermédiaire imidazoline a été proposé. Ce travail représente une nouvelle application pour le réactif polyvalent isocyanure du toluènesulfonylméthyle qui étend son utilisation à la préparation d'imidazole à partir de composés cétimine [123-124] (Schéma I-75).

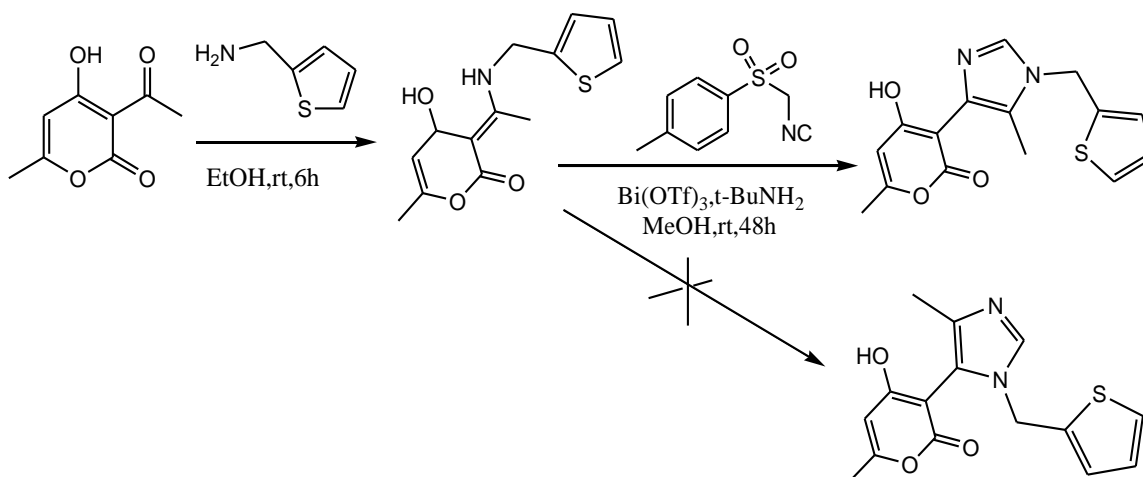


Schéma I-75 : Préparation d'imidazole à partir de composés cétimine

Par analogie avec nos résultats antérieurs, la réaction de condensation des diamines aromatiques différemment substituées sur la 2-acétylbutyrolactone a été étudiée. Dans chaque cas, une seule énamine a été isolée avec un rendement variant entre 75 et 95%.

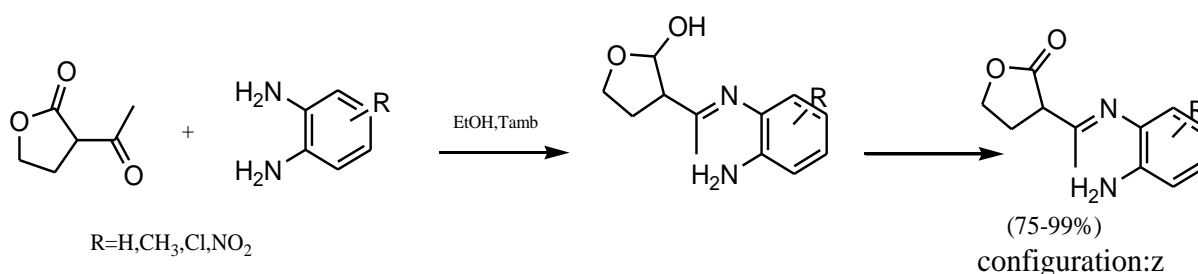


Schéma I-76 : Synthèse de structures énamines

Les énamines ainsi formées ont été fonctionnalisées en présence du CS<sub>2</sub>, du DMF-DMA, du triphosgène pour obtenir respectivement des structures de type : bezimidazolthione, benzimidazol et benzimidazolone. Selon le schéma réactionnel suivant [235].

Comme il a été obtenu récemment des benzimidazole-cyclohexanone de manière analogue à partir de la 2- acétylcyclohexanone [236]:

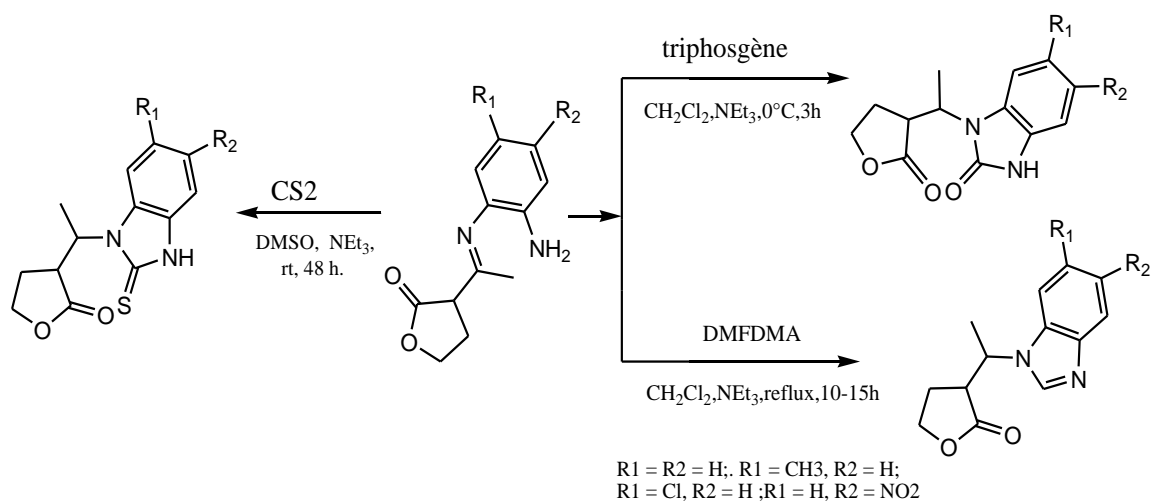


Schéma I-77 : Synthèse de benzimidazole-butylolactones

## Références bibliographiques

- [1] Alchihab, M., Destain, J., Aguedo, M., Thonart, P., *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2010**, 14(4), 681-691
- [2] Kihara, T., Kusakabe, H., Nakamura, G., T. Sakurai, T., Isona, K. J., *Antibiot.* **1981**, 34, 1073-1074
- [3] Evans, D. A., Kaldar, S. W., Jones, T. K., Clardy, J., Sstout, T. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7001-7031
- [4] Flan, X. P., Anderson, J. E., XQuiu, X., Koyloski, J. F., Chang, C. J., McLanghlin, J. J., *Tetrahedron.* **1993**, 49, 1563-1570
- [5] Sicher, J., *Prog. Stereochem.* **1962**, 3, 202
- [6] B. Simonot, B., Rousseau, G., *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5912-5919
- [7] Vanwagenen, C. B., Cardellina, J. H., *Tetrahedron.* **1986**, 42, 4, 1117-1122
- [8] Hoffmann, H. M. R., Rabe, J., *Angew. Chem., Int. Ed.* **1985**, 24, 94-110.
- [9] Brownlee, R. G., Silverstein, R. M., *Nature*, **1969**, 221, 284-285.
- [10] Ward, R. S., *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 75-96.
- [11] Müller, K., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, 56, 9-16.
- [12] a) Otsuka, K., Zenibayashi, Y., Itoh, M., Totsuka, A. *Agric. Biol. Chem.* **1974**, 38, 485-490. (b) Wilkinson, K. L., Elsey, G. M., Prager, R. H., Tanaka, T., Sefton, M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 6091-6100.
- [13] a) Kupchan, S. M., Eakin, M. A., Thomas, A. M. *J. Med. Chem.* **1971**, 14, 1147-1152. (b) Zavala, F., Guenard, D., Robin, J.-P., Brown, E., *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 546-549. (c) Rodriguez, A. D., Piña, I. C.; Barnes, C. L. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 8096-8100. (d) Wang, T.-C.; Lee, K.-H., Chen, Y.-L., Liou, S.-S., Tzeng, C.-C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2773-2776. (e) Jordan, A., Hadfield, J. A., Lawrence, N. J.; McGown A. T. *Med. Res. Rev.* **1998**, 18, 259-296. (f) Canel, C., Moraes, R. M., Dayan, F. E., Ferreira, D. *Phytochemistry* **2000**, 54, 115-120. (g) Rundle, N. T., Xu, L., Andersen, R. J., Roberge, M. *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 48231-48236. (h) Mi, Q., Lantvit, D.; Reyes-Lim, E., Chai, H., Zhao, W., Lee, I.-S., Peraza-Sánchez, S., Ngassapa, O.; Kardono, L. B. S.; Riswan, S., Hollingshead, M. G.; Mayo, J. G., Farnsworth, N. R.; Cordell, G. A.; Kinghorn, A. D.; Pezzuto, J. M. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 842-850. (i) Kasettrathat, C.; Ngamrojanavanich, N., Wiyakrutta, S., Mahidol, C., Ruchirawat, S., Kittakoop, P. *Phytochemistry.* **2008**, 69, 2621-2626. (j) Popsavin, V., Sreco, B., Benedekovic, G., Popsavin, M., Francuz, J., Kojic, V., Bogdanovic, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 5182-5185. (k) Reddy, D. M.; Qazi, N. A., Sanghpal, D. S., Bandey, A. H., Srinivas, J., Shankar, M., Singh, S. K., Verma, M., Chashoo, G., Saxena, A., Mondhe, D., Saxena, A. K., Sethi, V. K., Taneja, S. C., Qazi, G. N., Kumar, H. M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 3210-3217.
- [14] a) Fischer, N. H.; Lu, T., Cantrell, C. L., Castañeda-Acosta, J., Quijano, L. J., Franzblau, S. G. *Phytochemistry* **1998**, 49, 559-564. (b) Hughes, M. A.; McFadden, J. M., Townsend, C. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 3857-3859.
- [15] Hopper, M., Kirby, G. C., Kulkarni, M. M.; Kulkarni, S. N., Nagasampagi, B. A., O'Neill, M. J., Philipson, J. D., Rojatar, S. R., Warhurs, D. C. *Eur. J. Med. Chem.* **1990**, 25, 717-723.

- [16] a) Chen, Y.-L., Wang, T.-C., Chang, N.-C., Chang, Y.-L., Teng, C.-M.; Tseng, C. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, 46, 962-965. (b) Wang, T. C., Chen, Y. L., Liou, S. S., Chang, Y. L., Teng, C. M., Tzeng, C. C. *Helv. Chim. Acta.* **1996**, 79, 1620-1626. (c) Tzeng, C. C.; Wang, T. C., Chen, Y. L., Wang, C. J., Chang, Y. L., Teng, C. M. *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1161-1168.
- [17] a) Iiono, Y., Tanak, A., Yamashita, K. *Agric. Biol. Chem.* **1972**, 36, 2505-2509. (b) Srivastava, R. P., Proksch, P., Wray, V, *Phytochemistry.* **1990**, 29, 3445-3448.
- [18] a) Rücker, G. *Angewandte Chem., Int. Ed.* 1973, 12, 793-806. (b) Schachtschabel, D., Boland, W., *Chem. Bio. Chem.* **2009**, 10, 221-223.
- [19] Robles, M., Aregullin, M., West, J., Rodriguez, E. *Planta Med.* **1995**, 61, 199-203.
- [20] a) Jöchle, W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1962**, 1, 537-549. (b) Bates, R. B.; Cekan, Z.; Procházka, V., Herout, V. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 1127-1130
- [21] P. A. Grieco and M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1717
- [22] Ebata, T., Kawkami, K., Matsumoto, K., Okano, K., Matsushita, H., *Biosci ; Biotech ; Biochem.* **1993**, 57(3), 515-516
- [23] Jing, L., ShanFeng, Z., PanPan, W., *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (16), 70987112 doi: 10.1021/jm5009456
- [24] da Silva, R., de Souza, G. H. B., da Silva, A. A., de Souza, V. A., Vand Pereira, A. C., de Royo, A. V., Silva, E. M. L. A., Donate, P. M, de Matos, A. L. S., Carvalho, J. C. T., Bastos, J. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1033-1037.
- [25] Romagnoli, R., Baraldi, P. G., Tabrizi, M. A., Bermejo, J., Estévez, F., Borgatti, M.; Gambari, R. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7906-7910.
- [26] a) Doyle, M. P., Hu, W., Valenzuela, M. V. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2954-2959. (b) Takano, S., Imamura, Y., Ogasawara, K. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 4479-4482. (c) Koch, S. S. C., Chamberlin, A. R. Attaur-Rahman, Ed., Elsevier Science : Amsterdam. **1995**, 687-725.
- [27] a) Landais, Y., Robin, J.-P., Lebrun, A. *Tetrahedron* **1991**, 47, 3787-3804. (b) Yoda, H., Kimura, K., Takabe, K. *Synlett.* **2001**, 400-4
- [28] a) Luo, T., Dai, M., Zheng, S.-L., Schreiber, S.-L., *Org. Lett.* **2011**, 13, 2834-2836. (b) Miura, T., Fujioka, S., Takemura, N., Iwasaki, H., Ozeki, M., Kojima, N., Yamashita, M., *Synthesis*, **2014**, 46, 496-502. (c) Manikandan, R., Jeganmohan, M., *Org. Lett.*, **2014**, 16, 652-655. (d) Till, F., Schäberle, B., *J. Org. Chem.* **2016**, 12, 571-588. doi:10.3762/bjoc.12.56
- [29] McGlacken, G.P., Fairlamb, I. J. S. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, 22, 369-385. doi:10.1039/b416651p
- [30] Fairlamb, I. J. S., Marrison, L. R., Dickinson, J. M., Lu, F.-J.; Schmidt, J. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 4285-4299. doi:10.1016/j.bmc.2004.01.051
- [31] Suzuki, K., Kuwahara, A., Yoshida, H.; Fujita, S., Nishikiori, T., Nakagawa, T. *J. Antibiot.* **1997**, 50, 314-317. doi:10.7164/antibiotics.50.3
- [32] Kondoh, M., Usui, T., Kobayashi, S., Tsuchiya, K., Nishikawa, K., Nishikiori, T., Mayumi, T., Osada, H. *Cancer Lett.* **1998**, 126, 29-32. doi:10.1016/S0304-3835(97)00528-
- [33] Sarris, J., Kavanagh, D. J., *J. Altern. Complementary Med.* **2009**, 15, 827-836. doi:10.1089/acm.2009.0066

- [34] Calderón-Montaño, J. M., Burgos-Morón, E., Orta, M. L., Pastor, N., Austin, C. A., Mateos, S., López-Lázaro, M., *Toxicol Lett.* **2013**, 222,,64–71. doi:10.1016/j.toxlet.2013.07.007
- [35] Balbaa, S. I., Hilal, S. H., Haggag, M. Y. *Planta Med.* **1973**, 23,191–195. doi:10.1055/s-0028-1099432
- [36] Kim, J. H., Kim, J.-K., Ahn, E.-K., Ko, H.-J., Cho, Y.-R., Lee, C. H., Kim, Y. K., Bae, G.-U., Oh, J. S.; Seo, D.-W., *Cancer Lett.* **2015**, 369, (2):323-30
- [37] Gulder, T. A. M., Neff, S., Schüz, T., Winkler, T., Gees, R., Böhlendorf, B. , *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, 9, 2579–2585. doi:10.3762/bjoc.9.29357.
- [38] Bilia, A. R., Scalise, L., Bergonzi, M. C., Vincieri, F. F. *J.Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed.Life Sci.* **2004**, 812,203–214. doi:10.1016/S1570-0232(04)00644-0
- [39] Suzy M. Sabry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **2006**,40, 1057–1067
- [40] Bouaziz,O., Doctorat en Chimie, **2015** ; *USTHB*. Alger, Algérie
- [41] (a) Yousuf,S.K., Mukherjee,D., Mallikharjunrao,L., Taneja,S.C., *Org. Lett.* **2011**, 13, 576-579 (b) Kumar,P.V., Reddy,M.K., Rao,V.R., *Indian.J. Chem.* **2010**, 49B, 838-839; (c) Martinet,S., Méou,A., Brun,P., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 14, 2306-2311; (d) Hiromichi,F., Kenichi,M., Ozora,K., Yusuke,O., Yasuyuki, K., *Org. Lett.* **2007**, 9(9), 1687-1690; (e) Liao,M., Dong,S., Deng,G., Wang, J., *Tetrahedron.Lett.* **2006**, 47, 4537-4540; (f) Komutkul,T., Tuchinda,P.,Prabpai,S., Kongsaree, P., Reutrakul, V., *Tetrahedron. Lett.* **2005**, 61, 5311-5321; (g) Garzino, F., Méou,A., Brun,P., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 8, 1410-1414.
- [42](a) Bagley,M.C, Chapaneri,K., Dale J.W, Xiong,X., Bower,J.J, *Org. Chem.* **2005**, 70,1389–1399, (b) Linas-Brunet,M., Bailey, M.D, Ghire,E., V. Gorys, V., Halmos,T., Poirier,M.,Rancourt,J., Goudreau,N., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6584-6594, (c) Mopuru, V.B.R, Muntha,K.R., Duvvuru,G., Madugula,M.M, Cristelle,C.,Bernard,B., *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, 51(4) 458-459.
- [43] (a) Yaragorla,S., Muthyala,R., *Arkivoc.* **2010**, 10, 178-184, (b) Dhotare,B., Chattopadhyay,A., *Tetrahedron. Lett.* **2005**, 46, 3103-3105 , (c) Garbe,L.A., Tressi,R., *Helv, Chim. Acta.* **2004**, 87,180-196 ; (d) Kamimura,A., Murakami, N., Kawahara, F., Yokota,K., Omata,Y.,Matsura,K., Oishi,Y. , Morita,R., Mitsudera, H., Suzukawa, A., *Tetrahedron. Lett.* **2003**, 59, 9537-9546.
- [44] Jeffrey R Bishop, and Mani N Pavuluri , *Neuropsychiatr Dis Treat.* **2008**, 4(1): 55–68. Published online 2008 Feb.
- [45] Recht, J., Ashlay, E., Wite,N., *World Health Organization* , **2014** , p22
- [46] a) Gil,S., Parra,M., Rodriguez,P., Segura, J., *Mini-Reviews in Organic Chemistry.* **2009**, 6,345-358
- [47] Seitz, M., Reiser,O., *Curr. Opin, Chem. Biol.* **2005**, 9, 285-292.
- [48] Pandey, R.R, Srivastava, A., Deep Pachauri,S., Khandelwal,K., Naqvi,A., Malasoni,R., Kushwaha,B., Kumar,L., et al , *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **2014**,24 , 3903–3906
- [49] Johnson,W.L., *US.patented Office* “preparation of acetyl butyrolactone, “ 2,443,827 Serie N° 578,557, juin **1948**
- [50] Semak, V., Bohac,A., Salisova, M., Addova,G., Danko,P., *Chemical. Papers.*

- VERSITA.2008, 62(3), 275-280 , doi :10.2478/s11696-008-0023-1
- [51] Wei W., Sheng-Wan Z., Mei-Ping L., Ying-Yu R., *Chemical Papers*.2013, 67 (6) 624–630 ;doi: 10.2478/s11696-013-0337-5
- [52] Koehler,G., Uhlenbrock,W,. “ method for preparing 2-acetyl- - butyrolactone”, U.S.Patent,5,789,603, 04 Aout **1998**.
- [53] Badawey,E.S.A.M., Kappe,T., *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, 32, 815-822.
- [54] Asghari et Ramezani, *Acta. Chim. Slov.* **2007**, 54, 225-228.
- [55] Barta,N.S., Brode,A.,. Stille,J.R., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 6201-6206.
- [56] Yapi, A. D., Valentin, A., Chezal, J. M., Chavignon, O., Chaillot, B., Gerhardt, R., Teulade, J. C., Blache, Y. *Arch. Pharm.* **2006**, 339, 201.
- [57]Kimura,M.,Mukai,R.,Tanigawa,N.,Tanaka,S.,Tamaru,Y., *Tetrahedron.* **2003**, 59, (39), 7767-7777
- [58] Fujioka,H., Murai,K., Kubo,O., Ohba,Y., Kita, Y., *Org. Lett.* **2007**, 9, (9), 1687-1690.
- [59] S. Asghari, L. Mohammadi, *Tetrahedron Letters*;2006, 47, 4297–4299
- [60]K.GümüşNikolay,M.,Gorobets,Y.,Sedash,Y.,Shishkina,S.,Desenko , S.,*Tetrahedron Letters.* **2017**, 58, 3446-3448
- [61 ] Seitz, M.; Reiser,O. *Curr. Opin.Chem. Biol.* **2005**, 9, 285.
- [62 ]Rishi Ranjan Pandey et al, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* **2014**, 24, 3903–3906
- [63] a) Kuwayama,Y., Zasshi,Y., **1962**, 82, 1028 , (b) M. Kawanishi, T. SeiyakuKenkyu Nempo. **1958**, 3 ,p 4.
- [64] Hjeds H., Krogsgaard-Larsen P., *Acta Chem. Scand.* **1979**, B33, 294–298.  
b-) Krogsgaard-Larsen P., Roldskov-Christiansen T., *Eur. J. Med.Chem.-Chim. Ther***1979**, 14 157–164.(c) Katritzky A.R., Barczynski P., Ostercamp D.L., *J. Chem. Soc. PerkinTrans.* **1987**,2, 969–975.
- [65] Hlavka J.J., Bitha P., Lin Y., Strohmeyer T., *J. Heterocyclic Chem*; **1984**. 21, 1537-1541.
- [66] El-Sayed A.M., Badaweya, Ibrahim M. E., *J. Med. Chem.* **1998**.33 , 349-361
- [67] Shigeki, H., et al.,“Tricyclic fused heterocyclic compound, process for preparing it and medicament comprising” it US 6995163 B2,7 fév.**2006**.
- [68] Zimmermann,D., Janin,Y.L., Brehm,L., Osborne, H.B., Ebert, B.,. Johansen,T.N., Madsen,U., Larsen, P.K., *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, 34, 967–976.
- [69]a)Hassan,A., *Int. J. Org. Chem,* **2014**, 4, 68-81.<http://dx.doi.org/10.4236/ijoc.2014.41009>, (b) Skotnicka,A., Kolehmainen,E., Czeleń,P., Valkonen,A., Gawinecki, R., *Int. J. Mol. Sci.* **2013**,14, 4444-4460, doi:10.3390/ijms14034444.
- [70] Anderson,F.E, Duca,C.J, Scudi, J.V, *J. Am. Chem. Soc.***1951** , 73 ,4967–4968.
- [71] Rodríguez-Argüelles, M.C, Tourón-Touceda,P., Cao,R.,. García-Deibe ,A.M., Pelagatti, P., Pelizzi,C., Zani,F., *Journal of Inorganic Biochemistry.* **2009**, 103 35–42
- [72] Kumer,P.V., Reddy,K.M., Rao, R., *Indian Journal of Chemistry.* **2010**, 49B, 836-839.
- [73]Gevers et Vander Haeghen, *bulletin européen des brevets Belges et européens.***2000**, N°: 0773947, page n°5.

- [74] a) Druzhinin, S.V., *Tetrahedron. Lett.* **2007**, 63, 7753-7808 ; (b) Bonacorso, H.G., Martins, D. B., Martins, M.A.P., Zanatta, N., Flores, A.F.C., *Synthesis.* **2005**, 809-813.
- [75] a) Eicher, T., Hauptmann, S., Speicher, A., *The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications*” Second Edition. **2003**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany. (b) Eicher, T., Hauptmann, S., Speicher, A., *The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications.* 3rd, Completely Revised and Enlarged Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim. **2012**
- (c) Abele, E., Abele, R., Lukevics, E., *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Springer, New York. **2007**
- [76] Breslow, Ronald. On the Mechanism of Thiamine Action. IV. 1 Evidence from Studies on Model Systems, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80(14): 3719–3726
- [77] Martins, P., Jesus, J., Santos, S., Raposo, L.R., Roma-Rodrigues, C., Viana Baptista, P., *Molecules.* **2015**, 20, 16852-16891
- [78] a) G.W.A. Milne, in: Ashgate (Ed.), *Handbook of Antineoplastic Agents*, Gower, London, UK, **2000**. (b) Das, J., Chen, P., Norris, D., Padmanabha, R., Lin, J., Moquin, R.V., Shen, Z., Cook, L.S., Doweyko, A.M., Pitt, S., Pang, S., Shen, D.R., Fang, Q., de Fex, H.F., McIntyre, K.W., Shuster, D.J., Gillooly, K.M., Behnia, K., Schieven, G.L., Wityak, J., Barrish, J.C., *J. Med. Chem.* **2006** ; 49 6819-6832.
- [79] M.V.N. De Souza, M.V. De Almeida, *Quim. Nova.* **2003** ; 26 ; 366-372.
- [80] Pasqualotto, A.C., Thiele, K.O., Goldani, L.Z., *Curr. Opin. Investig. Drugs.* **2010**, 11, 165-174.
- [81] L.M. Fox, L.M., L.D. Saravolatz, L.D., *Clin. Infect. Dis.* **2005**, 40 1173-180.
- [82] a) Lednicer, D., Mitscher, A., George, G.I., *Org. Chem. Drug Synthesis.* **1990**, 4, 95-97. (b) Rehman, M.Z., Anwar, C.J., Ahmad, S., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2005**, 26 1771-1775.
- [83] Knadler, M.P., Bergstrom, R.F., Callaghan, J.T., Rubin, A., *Drug Metab. Dispos.* **1986**, 14, 175-182.
- [84] Maillard, L.T., Bertout, S., Quinon, O., Akalin, G., Zitouni, G.T Fulcrand, P., Demirci, F., Martinez, J., Masurier, N., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23; 1803e1807.
- [85] Makam, P., Kankanala, R., Prakash, A., Kannan, T., *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 564-576.
- [86] Moghaddam, G., Ebrahimi, S.A., Rahbar-Roshandel, N., *Foroumadi, Phytother. Res.* **2012**, 26, 1023-028
- [87] Abele, E., Abele, R., Lukevics, E., *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Springer, New York, **2007**
- [88] Carbone, A., Pennati, M., Parrino, B., Lopergolo, A., Barraja, P., Montalbano, A., Span, V., Sbarra, S., Doldi, V., De Cesare, M., Cirrincione, G., Diana, P., Zaffaroni, N., *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 7060-7072
- [89] Siddiqui, N., Ahsan, W., *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 1536-1543.
- [90] Shiradkar, M.R., Akula, K.C., Dasari, V., Baru, V., Chiningiri, B., Gandhid, S., Kaure, R., *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2601-2610.
- [91] Liu, X.Y., Wang, R.L., Xu, W.R., Tang, L.D., Wang, S.Q., Chou, K.C., *Protein Pept. Lett.* **2011**, 18, 1021-1027

- [92] Love, B.L., Barrons, R., Veverka, A., Snider, K.M., *Pharmacotherapy*, **2010**, 18, 594-608
- [93] Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Salgado, V.L., Kausmann, M., *Pest. Biochem. Physiol.* **2003**, 76, 55-69.
- [94] (a) Khalifa, M.E., Al-Amoudi, M.S., Gobouri, A.A., Merazga, A., Fadda A.A., *Optical Materials. Acta Chim Slov.* **2016**, 63(1):121-128.  
doi:10.17344/acsi.2015.2018. (b) Hrobárik, P., Sigmundová, I., Zahradník, P., et al. *J. Phys. Chem. C.* **2010**, 114(50):22289-22302. doi:10.1021/jp108623d. (c) Spassova, M., Enchev, V., *Chem Phys.* **2004**; 298:29-36. doi:10.1016/j.chemphys.2003.11.001. (d) Lin, Y., Fan, H., Li, Y., Zhan, X., *Adv Mater.* **2012**, 24(23):3087-3106.  
doi:10.1002/adma.201200721.
- [95] Hantzsch, A., Weber, J.H., Ueber Verbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). *Berichte der Dtsch Chem Gesellschaft.* **1887**, 20(2), 3118-3132. doi:10.1002/cber.188702002200
- [96] Schwarz, G., **1945**, 3, 25: 35, Coll. 332.
- [97] (a) Serge Ngono Bikobo, D., Vodnar, D.C., Stanab, A., Tipericiu, B., Nastasa, C., Douchet, M., Oniga, O., *Journal of Saudi Chemical Society* **2017**, 21, 861-868 (b) Thompson, C.M., Poole, J.L., Cross, J.L., Akritopoulou-Zanze, I., S.W. Djuric, S.W., *Molecules.* **2011**, 16, 9161-9177
- [98] Alessandro D, Alberto M. Thiazole-Mediated Synthetic Methodology, *Chem. Rev.* **2004**, 2557-2599. DOI: 10.1021/cr020079l
- [99] Koichi, N., Shen, S.S., Mao-Yi L., *Tetrahedron Lett.* **2009**, 3161-3163. 10.1016/j.tetlet.2008.12.118
- [100] Dominique R., Qiao Q., Goodnow Jr., *Tetrahedron Lett.* **2008**, 368-3686. 10.1016/j.tetlet.2008.03.140
- [101] Facchinetti, V., Avellar, M.M., Nery, A.C.S., Gomes, C.R.B., Vasconcelos, T.R.A., de Souza, M.V.N., *Synthesis.* **2016**, 48, 437-440.
- [102] Gabriel, S., Synthese von Oxazolonen und Thiazolonen II, *Berichte*, **1910**, 1283-1287. DOI: 10.1002/cber.19100430219
- [103] Sheldrake, P.W., Matteucci, M., McDonald, E., *Synlett*, **2006**, 460-462.
- [104] Cook, A.H., Heilbron, I., MacDonald, S.F., Mahadevan, A.P., *J. Chem. Soc.* **1949**; 1064-1068
- [105] Tang, X., Yang, J., Zhu, Z., Zheng, M., Wu, W., Jiang, H., *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 11461-11466.
- [106] Tang, X., Zhu, Z., Qi, C., Wu, W., Jiang, H., *Org. Lett.* **2016**, 18, 180-183.
- [107] Chen, B., Guo, S., Guo, X., Zhang, G., Yu, Y., *Org. Lett.* **2015**, 17, 4698-4701.
- [108] Vijaya kamar, P., Monohar Ready, K., Rajeswar, V., Rao, *Indian. Journal of Chemistry.* **2010**, 49B.836-839
- [109] Bouzrou, S. Bentarz, Y., Kaouar, R., Bolli, K., Boulain-Bartini, J., Funach, E., *Org. Commun.*, **2010**, 3:1, 8-14
- [110] Singh, S.P., Tarar, L.S., Kumar, D., *synthetic communication.* **1993**, 23(13), 1855-1861
- [111] Rajeswar Rao, V., Ravinder Reddy, V., *Synthetic Communications.* **2010** 40: 3186-3195,



- [112]. Huang, L., inventor; Shantou Jiecheng Food Additive Co. Ltd., Chinese patent CN 101810240A. August 25, **2010**.
- [113] Edgett, K., Jorgensen, R., Dougherty, E. P., inventors, Playtex Products, LLC, USA. US patent US 20110224637A1. Sep 15, **2011**.
- [114] Zhejiang Dong'ou Diagnostic Products Co. Ltd., Chinese Patent CN 102154443A. August 17, **2011**.
- [115] Wang, Z., inventor, Peop. Rep. China, Chinese Patent CN 102028012A. April 27, **2011**.
- [116] Yang, Z., Huang, J., Gao, C., Bai, Y., Lu, S.; Chen, X., Shen, J., inventors, Nantong cellulose fibres Co. Ltd., Chinese Patent CN 102021824A. April 20, **2011**.
- [117] Fan, D., Zhao, J., Chen, W., Zhang, H., Wang, Z., Wang, L., Yan, B., inventors; Jiangnan University, Chinese Patent CN 101999431A. April 06, **2011**.
- [118] Song, H. H., inventor; Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo, Korean patent KR 2011033831A. March 31, **2011**.
- [119] Li, M., Li, Y., Bian, H., inventors, Shenyang Hongmei Biology Science and Technology Co. Ltd., Chinese patent CN 101991174A. March 30, **2011**.
- [120] Bo, H., inventor, Chongqing Weishi Chemical Industry Co. Ltd., Chinese patent CN 101984863A. March 16, **2011**.
- [121] Fodili, M., Amari, M., Robert, A., Baudy-Floc'h, M., Le Grel, P. *Synthesis*. **1999**,5, 811-814.
- [122] Bouayad, K., Kandri Rodi, Y., El Ghadraoui, E. H., Mague, J. T., Essassi, E. M., Zouihri, H. *IUCrData*. **2016**,1, x160766.
- [123] Fodili, M., Garrigues, B., Lherbet, C., Hoffmann, P. *Letters in Organic Chemistry*. **2009**,6, 354-358.
- [124] Fodili, M., Vedrenne, M., Saffon-Merceron, N., Lherbet, C., Hoffmann, P. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2015**,51, 940-943.
- [125] Zema, L., Sangalli, M. E., Maroni, A., Foppoli, A., Bettero, A., Gazzaniga, A. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2010**,75, 291-296.
- [126] Aggarwal, R., Rani, C., Kumar, R., Garg, G., Sharma, J. *Arkivoc*. **2014**, ii, 120-134.
- [127] a) Kashmiri, L., Pinki, Y., Ashwani, K., Anil K., Avijit, Kumar, *Bioorganic Chemistry*. **2018**,77, 236-244, (b)-Vishwakarma, P. K., Mir, J. M.; Maurya, R. C., *Journal of Chemical Sciences*. **2016**, 128, 511-522
- [128] Sundar, P. S., Gunasheela, D., *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. **2016**, 3, 381-384.
- [129] Ullah, H., Wattoo, F. H., Sarwar Wattoo, M. H., Gulfraz, M., Tirmizi, S. A., Ata, S. *TürBiyokimya Dergisi*. **2012**, 37, 386-391.
- [130] Bechak, T., Nouzoura, S. A., Nemalek, T., Dalhi, M., Lartini, S. P., Lorizur, V., Funach, E., *Synthetic Communications*. **2015**,45, 262-272
- [131] Satish, G., Sharma, A., Gadidasu, K. K., Vedula, R. R., Penta, S. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2016**,52, 409-414.
- [132] Kumar, A., Lohan, P., Aneja, D. K.; Gupta, G. K., Kaushik, D., Prakash, O. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2012**,50, 81-89.

- [133] Swamy, P. G., Sri, B. R., Giles, D., Shashidhar, B., Das, A. K., Agasimundin, Y. *Medicinal Chemistry Research*. **2013**, 22, 4909-4919.
- [134] Tambov, K. V., Voevodina, I. V., Manaev, A. V., Ivanenkov, Y. A., Neamati, N., Traven, V. F. *Russian Chemical Bulletin*. **2012**, 61, 78-90.
- [135] Defant, A., Mancini, I., Tomazzolli, R., Balzarini, J. *Archiv der Pharmazie*. **2015**, 348, 23-33.
- [136] Pal, R., Kumar, V., Gupta, A. K., Beniwal, V., Gupta, G. K. *Medicinal Chemistry Research*. **2014**, 23, 4060-4069.
- [137] Schibbye, G., *Zur Geschichte der Dehydracetsäure*. **1882**.
- [138] Oppenheim, A., Precht, H., *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1876**, 9, 323-325.
- [139] Haitinger, L., *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **1885**, 18, 452-453.
- [140] Haitinger, L., *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*, **1885**, 6, 103-106.
- [141] Perkin, W. H., *Journal of the Chemical Society, Transactions*. **1887**, 51, 484-500.
- [142] Ostwald, W., *Über die Affinitätsgrößen organischer Säuren und ihre Beziehungen zur Zusammensetzung und Constitution derselben*. **1889**,
- [143] Feist, F., *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. **1890**, 257, 253-297.
- [144] Collie, J. N., *Journal of the Chemical Society, Transactions*. **1891**, 59, 607-617.
- [145] Collie, J. N., *Journal of the Chemical Society, Transactions*. **1891**, 59, 179-189.
- [146] Forsen, S., Nilsson, M., *Arkiv för kemi*. **1961**, 17, 523-528.
- [147] Berson, J. A., *Journal of the American Chemical Society*. **1952**, 74, 5172-5175.
- [148] Billes, F., Elečková, L., Mikosch, H., Andruch, V., *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **2015**, 146, 97-112.
- [149] Reed, R. I., Takhistov, V. V., *Tetrahedron*, **1967**, 23, 2807-2815.
- [150] Geuther, A., *Chem. Zentr.* **1866**, 11, 801.
- [151] Rivera, C., Piñeyro, E., Giral, F., *Experientia*. **1976**, 32, 1490-1490.
- [152] Townshend, A., Burns, D. T., Lobinski, R., Newman, E. J., Guilbault, G., Marczenko Onishi, Z., H., *Dictionary of Analytical Reagents*. **1993**, 1st Ed, 5
- [153] 13. Rivera, C., Pineyro, E., Giral, F. *Experientia* **1976**, 32, 1490.
- [153] Ohno, H., Saheki, T., Awaya, J., Nakagawa, A., Omura, S. *J. Antibiot.* **1978**, 31, 1116.
- [155] Pechmann, V., *Ber.* **1891**, 24, 3600, *Ann.* **1893**, 273, 194.
- [156] Arndt, F., Nachtwey, P. *Ber.* **1954**, 57, 1489; *Chem. Abstr.* **1925**, 19, 286.
- [157]. Kaushol, R., *J. Indian Chem. Soc.* **1946**, 23, 16.
- [158] Steele, A. B., Boese, A. B., Dull, M. F., *J. Org. Chem.* **1949**, 14, 460
- [159] Boese, A. B., *Industrial & Engineering Chemistry*, **1940**, 32, 16-22.
- [160] Steele, A. B., Boese, A. B., Dull, M. F., *The Journal of Organic Chemistry*. **1949**, 14, 460-469.
- [161] Buckles, R. E., Smith, R. J., *Journal of the American Chemical Society*. **1952**, 74, 3174-3175.
- [162] a) Xi, M.-y., Sun, Z.-y., Sun, H.-p., Jia, J.-m.; Jiang, Z.-y., Tao, L., Ye, M., Yang, X., Wang, Y.-j., Xue, X., *European journal of medicinal chemistry*. **2013**, 66, 364-

- 371(b) Tabuchi, H., Hamamoto, T., Miki, S., Tejima, T., Ichihara, A., *The Journal of Organic Chemistry*. **1994**, 59, 4749-4759
- [163] Collie, J. N. , *Journal of the Chemical Society, Transactions*. **1900**,77, 971-977.
- [164] Dieckmann, W., Breest, F., *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1904**, 37, 3387-3392.
- [165] Hyatt, J. A., Feldman, P. L., Clemens, R. J. , *The Journal of Organic Chemistry*. **1984**, 49, 5105-5108.
- [166] Balenović, K., *Experientia*. **1946**,2, 406-407.
- [167] Balenović, K., *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. **1948**,67, 282-284.
- [168] Poje, M., Gašpert, B., Balenović, K., *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*.**1978**,97, 242-244 (b) Poje, M., *Tetrahedron Letters*. **1980**, 21, 1575-1576.
- [169] Yamamoto, Y., Morita, Y., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.**1984**, 32, 2957-2962.
- [170] Stephen, J. F., Marcus, E., *The Journal of Organic Chemistry*. **1969**,34, 2527-2534.
- [171] Elassar, A. Z. A., El-Khair, A. A. , *Tetrahedron*. **2003**,59, 8463-8480.
- [172] Kumar Gupta, G., Mittal, A., Kumar, V., *Letters in Organic Chemistry*. **2014**,11, 273-286.
- [173] Jilalat,A., Hashem, A., Al-Garadi,H., Karrouchi, K., Essassi,E., *J.MAR.CHIM.HETEROCYCL*.**2017**, Volume 16, N° 1
- [174] Dehydroacetic Acid and its Derivatives, Useful Synthons in Organic Synthesis, **2017**, 81–118
- [175] Walker, G. N., *Journal of the American Chemical Society*. **1956**,78, 3201-3205.
- [176] Rachedi, Y., Hamdi, M., Spéziale, V., *Synthetic Communications*. **1989**,19, 3437-3442.
- [177] Bacardit, R., Moreno-Mañas, M., Pleixats, R., *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **1982**,19, 157-160.
- [178] Pleixats, R., *Anales de Química Serie C-Química Organica y Bioquímica*. **1985**, 81, 157161.
- [179] Naoki, T., Hideo, N., Seisho, T., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **1980**,28, 3002-3006.
- 180** Löwe, W., *Archiv der Pharmazie*. **1977** ,310, 931-935.
- [181] Löwe, W., *Archiv der Pharmazie*. **1978** ,311, 414-420.
- [182] Pulate, C. P., Gurubasavrajswamy, P., Antre, R. V., Divakar, G. *International Journal Of Drug Design and Discovery*. **2011**, 2, 483-487.
- 183** Fadda, A. A., Amine, M. S., Arief, M. M. H., Farahat, E. K., *Pharmacologia*. **2014**, 5, 11.
- [184] Pashkovsky, F., Dontsu, J., Rubinov, D., Lakhvich, F., *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2015**, 50, 1421-1431.
- [185] a)Mahesh, V., Gupta, R., *Indian Journal of Chemistry*, **1974**, 12, 570-572. (b).Faidallah, H.M., Rostom, S. A., Al-Saadi, M. S., *Journal of King Saud University – Science*. **2010**, 22,177-191.
- [186] a)Akhrem, A. A., Moiseenkov, A. M., Lakhvich, F. A., Smul'skii, S. P. , *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science*. **1971**, 20, 1014-

- 1015.(b) Ogawa, K., Miyoshi, K., *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1992**, 81, 581-585.(c) Cantos, A., March, P. d., Moreno-Mañas, M., Pla, A., Sanchez-Ferrando, F.,Virgili, A., *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **1987**,60 , 4425-4431
- [187] Djerrari, B., Essassi, E. M., Fifani, J., Garrigues, B., Pierrot, M., *Indian Journal of Chemistry*.**2003**, 42B, 2820-2827.
- [188] Kumar, A., Prakash, O., Kinger, M., Singh, S. P., *Canadian Journal of Chemistry*.**2006**, 84, 438-442.
- [189] Gelin, S., Chantegrel, B., Nadi, A., I.*The Journal of Organic Chemistry*. **1983**,48, 4078-4082.
- [190] a)Colotta, V., Catarzi, D., Varano, F., Melani, F., Filacchioni, G., Cecchi, L., Trincavelli, L., Martini, C.,Lucacchini, A., *Il Farmaco*. **1998**, 53, 189-196. (b) Pavlik, J. W., Ervithayasuporn, V., MacDonald, J. C., Tantayanonb, S., *Arkivoc*.**2009**,8, 57-68 (c) Pavlik, J. W., Ervithayasuporn, V.,Tantayanon, S., *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **2011**,48, 710-714.
- [191] a)Djerrari, B., Essassi, E., Fifani, J., *Bulletin de la Société chimique de France*. **1991**,58, 521-524 (b) Bendaas, A., Hamdi, M., Sellier, N., *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **1999**, 36, 1291-1294 (c) Parshad, M., Kumar, D., *Chemistry & Biology*. **2014**,4, 100-110.
- [192] Prakash, O., Kumar, A., Kinger, M., Singh, S. P., *Indian J. Chem.* **2006**, 45B, 456.
- [193]a)Kumar, A., Lohan, P., Aneja, D. K., Gupta, G. K., Kaushik, D., Prakash, O., *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 50, 81 (b) Hoffmann, P., *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2015**, 51, 940-943.
- [194] Ait-Baziz, N., Rachedi, Y., Silva, A. M., *Arkivoc*. **2010**,10, 86-97.
- [195] Hikem-Oukacha, D., Hamdi, M., Silva, A. M. S., Yahia, R., *Journal of HeterocycliChemistry*. **2011**,48, 63-68.
- [196] Abdi, Y., Boutemour-Kheddis, B., Hamdi, M.; Talhi, O., Paz, F. A. A., Kirsch, G., Silva, A. ,*ChemInform*. **2015**,46, 1749-1754.
- [197] Bade, T., Vedula, R. R.,*Organic Communications*.**2014**, 7, 53-59.
- [198] Diwischek, F., Arnone, M., Engels, B., Holzgrabe, U., *Tetrahedron*. **2005**, 61, 6993.
- [199] Löwe, W., Braun, B., Müller, B., *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **1994**, 31, 1577-1581.
- [200]Siddiqui, Z. N., Farooq, F., *J. Mol. Catal. A Chem.* **2012**, 451, 363– 364,
- [201]. Penta, S, Vedula, R. R. , *J. Heterocycl.Chem*.**2013**, 50, 859,
- [202] Nagawade, R.R., Khanna, V.V., Bhagwat, V.V., Shinde, D.B., *Eur. J. Med.Chem*.**2005**, 40, 1325.
- [203] Kołodziej, B., Morawiak, M., Kamiński, B., Schilf, W., *Journal of Molecular Structure*. **2016**,1112, 81-86.
- [204] Hubertha, M., Pene, C., Royer, R., *Chimica Therapeutica*. **1973**,8, 194-198.
- [205] Ram, V. J., Srivastava, P., *Current Organic Chemistry*. **2001**, 5, 571-599.
- [206] Djerrari, B., Essassi, E. M., Fifani, J., Garrigues, B., *Comptes Rendus Chimie*.**2002**, 5,177-183.

- [207] Bel-Ghacham, H., Rodi, Y. K., A.Haoudi, Rolando, C., Skalli, M. K., Garrigues, B.Saffon, N., Essassi, E. M., Newman, E., *Journal Marocain de Chimie Hétérocyclique*. **2008**, 7, 32-38.
- [208] El Abbassi, M., Djerrari, B., Essassi, E. M., Fifani,J., *Tetrahedron Lett.***1989**, 30, 7069
- [209] Minnih, M. S., Alsubari, A., Essassi, E. M., Cherrah, Y., Zellou, A., *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **2014**,6, 162-167.
- [210] Minnih, M. S., Kandri Rodi, Y., Essassi, E. M., *Journal Marocain de Chimie Hétérocyclique*. **2014**, 13, 1-24.
- [211] Azuma, Y. , Sato,A., Morone, M., *Heterocycles*. **1993**,35, 599
- [212] Prakash,O., Kumar,A., Sadana,A., Singh,S.P., *Synth. Commun.***2002**, 32, 2663
- [213] Rabahi, A., Hamdi, S. M., Rachedi, Y., Hamdi, M.,Talhi, O., Paz, F. A. A., Silva, A. S. M., *J. Mol. Str.* **2014**, 1061, 97.
- [214]. Raoua, K., Bolli, K. N., Roisnel, T., Gal, Y. L., Lorcy, D. *Tetrahedron* **2013**. 69, 4636.
- [215] Singh, S. P., Tarar, L. S., Kumar, D., *Synthetic Communications*. **1993**, 23, 1855-1861
- [216] Mor, S., Mohil, R., Nagoria, S., Kumar, A., *Journal of the Serbian Chemical Society.***2017**,82, 1-14.
- [217] Mor, S., Mohil, R., Kumar, D., Ahuja, M., *Medicinal Chemistry Research*. **2012**, 21,3541-3548.
- [218] a) Prakash, R., Kumar, A., Prakash, O., *Synth.Comm.* **2005**. 35, 461(b) Prakash, R., Kumar, A., Singh, S. P., Aggarwal, R., Prakash, O., *Indian J.Chem.* **2007**, 46B, 1713.
- [219] Penta ,S., Rao Vedula, R., *Org. Commun.***2012**, 5:3 ,143-149
- [220] Penta, S., Vedula, R. R. *Synth. Commun.***2012**, 42, 3395.
- [221] Ben Mohamed, S., Rachedi, Y., Hamdi, M., Le Bideau, F., Dejean, C., Dumas, F.*European Journal of Organic Chemistry*. **2016**, 2628-2636
- [222] Penta, S.,Vedula, R. R., *J. Sulfur Chem.* **2011**, 32, 327.
- [223] Kaur,N., Aggarwal,A.K., Sharma,N., Choudhary,B., *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. **2012**. 4(3): 199-204
- [224] Prakash, R., Kumar, A., Singh, S. P., Aggarwal, R., Parkash, O., *Indian Journal of Chemistry*. **2007**, 46B, 1713-1715
- [225] Bouherrou,H., Saidoun,A., Abderrahmani,A., Abdellaziz,L., Rachedi,Y., Dumas,F.,Demenceau.A., *Molecules*.**2017**, 22,757, doi:10.3390/molecules22050757
- [226]Hikem-Oukacha, D., Rachedi, Y., Hamdi, M., Silva, A. M. S., *J. Heterocycl.Chem.***2011**, 48, 31.
- [227] Swamy, P. M. G., Ramya Sri, B., Giles, D., Shashidhar, B. V., Das, A. K., Agasimundin, Y. S., *Med. Chem. Res.* **2013**, 22, 4909.
- [228] Amari, M., Bolli,B., *J. Soc. Alg. Chim.***2001**, 11(1), 77.
- [29] Bouaziz,O., Fodili,M., Amari,M., *Rev. Sci, Tech. Dév, ANDRU.***2010**
- [230]Bouaziz,O., Fodili,M., Amari,M., *Revue Sciences, Technologie et Développement*. **2008**

- [231] Bouaziz, O., Fodili, M., Amari, M., Garrigues, B., *J.MAR.CHIM.HETEROCYCL.*  
Volume 8, N° 1 Décembre **2009**
- [232] Bouaziz, O., Abboub, F., Khier-Bayou, N., Fodili, M., Hoffmann, P., Amari, M.,  
*C. R. Chimie.* **2012**, 15, 774-778
- [233] a) Lygin, A. V., De Meijere, A., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**. 49, 9094. (b)  
Reddy, V. V. R., *Synlett* **2005**. 2, 363. (c) Van Leusen, D., van Leusen, A. M. *Org.*  
*React.* **2004**, 57, 417. (d) Tandon, V. K, Rai, S. ,*Sulfur Rep.* **2003**. 24, 307. (e)  
Lamberth, C. *J. Prakt. Chem.* **1998**, 340, 483. (f) Rani, N., Sharma, A., Singh, R. *Mini.*  
*Rev. Org. Chem.* **2015**, 12, 34.
- [234] Fodili. M., Hoffmann P., Amari M., *Research Journal of Pharmaceutical,*  
*Biological and Chemical*, April – June **2012** RJPBCS Volume 3 Issue 2 Page No. 10
- [235] Bouaziz, O., Amari, M., Bachar, R.M., Khier, N., Fodili, M., Almeida Paz, F.A.,  
Talhi, O., Silva, A.M.S., *Tetrahedron. Lett.* **2015**. 56, 1020-1024.
- [236] Belkheiri, N., Belkacem ,Z., Derdour ,M., Mechrouh, F.Z., Bachar ,R.M.,  
Fodili, M. , Amari, M., Hoffmann, P., *Journal of Fundamental and Applied Sciences.*  
**2018**. ISSN 1112-9867
- [237] Bachar, R. M., Orena, B.S., Mori, G., Saffon-Merceron, N., , Rodriguez , F.,  
Lherbet, C., Belkheiri, N., Amari, M., Pascal Hoffmann, P., Fodili, M., *Med Chem*  
*Res.* **2018**, 27, 308-320

## Chapitre II

### Synthèse de molécules de structure thiazolopyrazolone

## Introduction

Etant donné l'intérêt que présente la 2-acétylbutyrolactone en synthèse organique et hétérocyclique de par : sa disponibilité, sa fonctionnalité et la grande possibilité de donner des composés à large potentiel thérapeutique et biologique.

En continuité de nos travaux sur ce réactif qui ont permis d'aboutir à des dérivés benzimidazole [235], le présent chapitre apporte la synthèse de nouvelles structures de type thiazole [237] porteuses de résidus pyrazolique obtenues selon le schéma global suivant

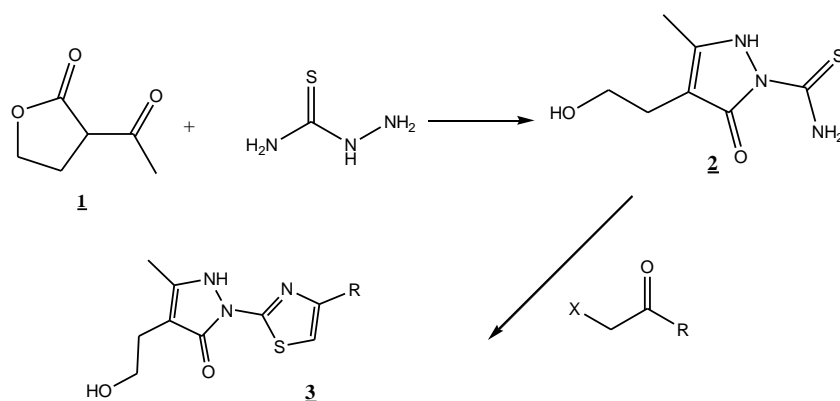
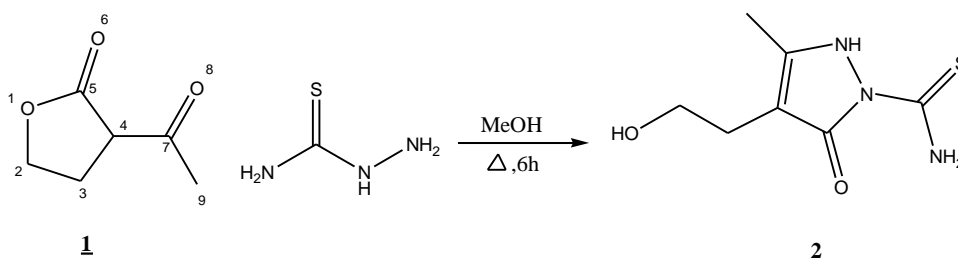


Schéma général de la synthèse structure thiazolopyrazolone

### II-1 Obtention du pyrazolone 2:

Nous avons étudié la réaction de condensation du thiosemicarbazide sur la 2-acétylbutyrolactone dans le méthanol, en portant le mélange réactionnel à reflux pendant 6h (schéma II-1). Nous avons isolé un seul produit avec un bon rendement de 80%.



SchémaII- 1 : Obtention du pyrazolone 2



Le tableau II-1 présente les résultats obtenus dans la synthèse de la pyrazolone 2.

**TableauII-1** : Propriétés physico-chimiques du dérivé 2

Composé	Rdt(%)	Aspect	PF(°C)
<u>2</u>	80	Poudre blanche	172-173 °C

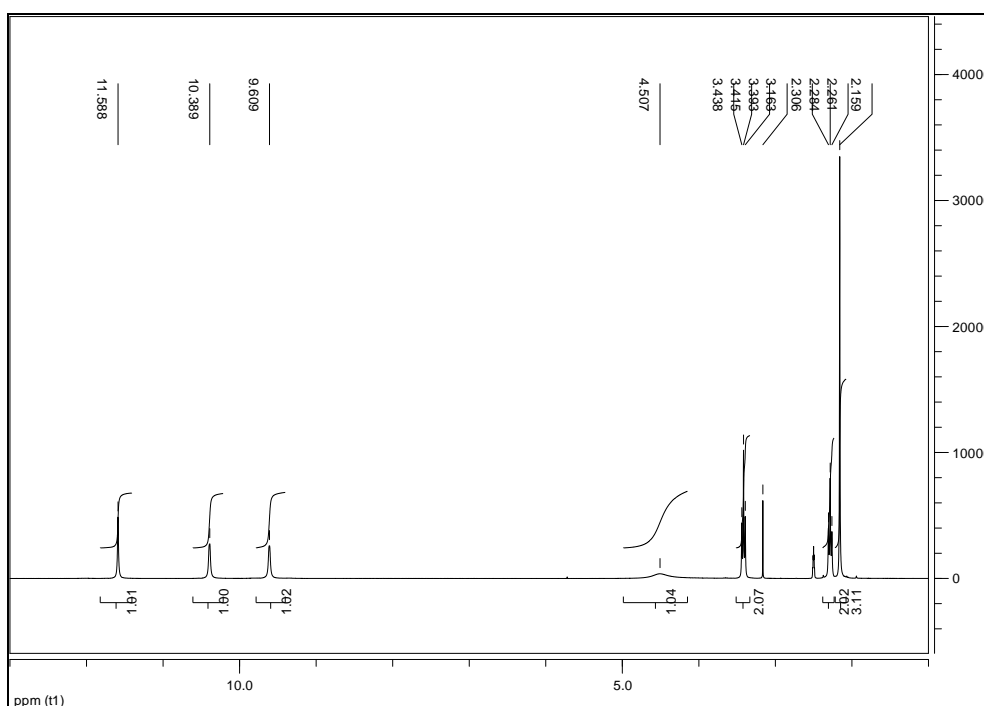
La valeur du rendement de la réaction, nous donne une idée sur la grande réactivité de la thiosemicarbazide sur l'acétylbutyrolactone 1.

## II-2 Caractérisation des pyrazolone 2:

La pyrazolone 2 est caractérisée par les méthodes d'analyses de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone 13 et par la diffraction aux rayons X.

### a. Caractérisation par RMN <sup>1</sup>H :

Nous constatons sur le spectre du composé 2, particulièrement, la disparition du signal du proton du carbone asymétrique en position 4 du cycle lactonique de 1, l'apparition du signal de l'hydrogène de l'amine secondaire vers 4,51 ppm et l'apparition du signal de l'hydrogène de l'alcool à 11.59 ppm. Afin de faciliter les attributions des déplacements chimiques, nous présentons le spectre du dérivé 2



Dérivé 2 RMN <sup>1</sup>H à 300MHz, δ (ppm) , DMSO

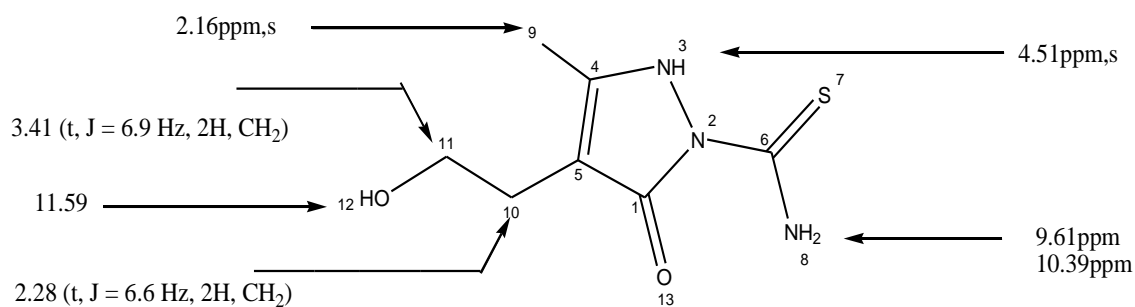


Figure II- 1 : Dérivé 2 RMN <sup>1</sup>H

Ainsi, les intensités des signaux RMN <sup>1</sup>H sont en bon rapport d'intégration pour les différents protons présents dans la structure proposée.

Les déplacements chimiques des différents protons sont rassemblés dans le tableau II-2

**TableauII-2 :** Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H du dérivé 2

Composé	RMN <sup>1</sup> H à 300MHz, δ (ppm)
<u>2</u>	2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.28 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.41 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.51 (br. s, 1H, NH), 9.61 (br. s, 1H, NH <sub>2</sub> ), 10.39 (br. s, 1H, NH <sub>2</sub> ), 11.59 (br. s, 1H, OH);

### b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup>C :

Sur la base des données RMN <sup>13</sup>C, nous résumons les déplacements chimiques des carbones comme suit :

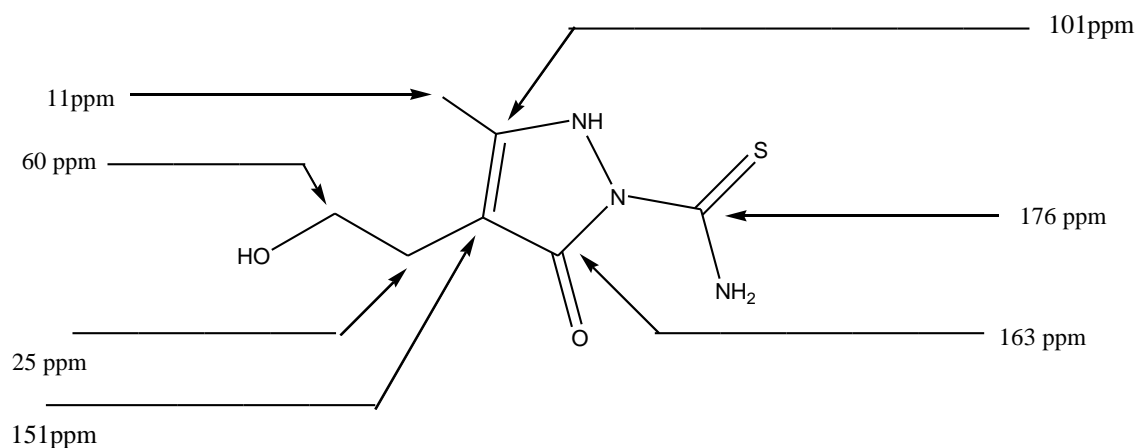
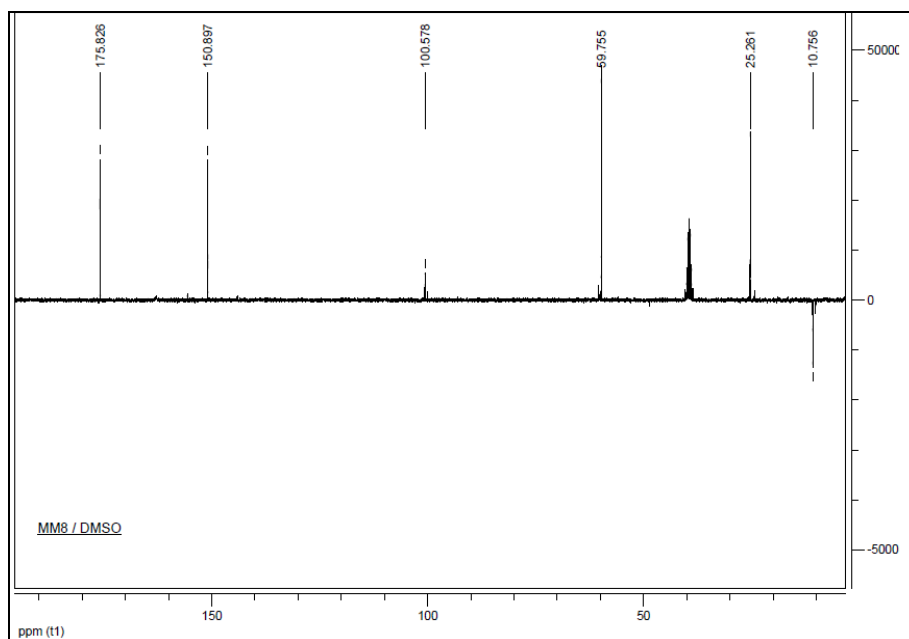


Figure II-2 : Dérivé 2 RMN <sup>13</sup>C



Dérivé 3a RMN  $^{13}\text{C}$  à 500MHz,  $\delta$  (ppm) , DMSO

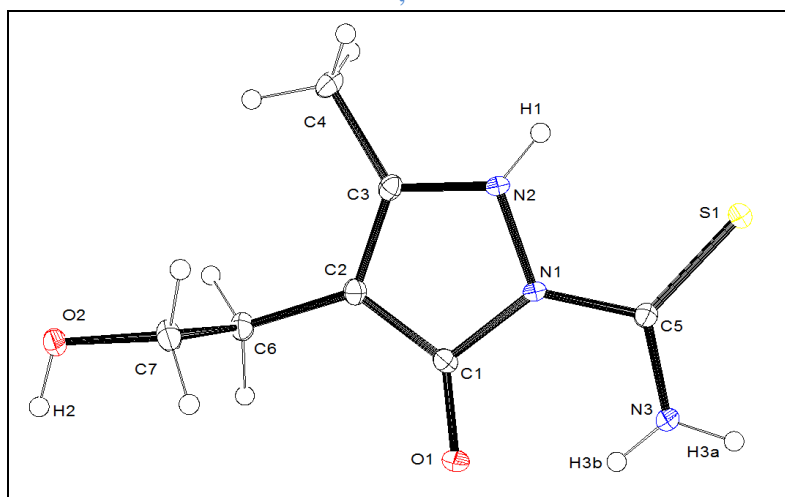
Il est à signaler que la technique d'analyse utilisée en RMN  $^{13}\text{C}$  est l'Echo spin en J modulé. Cette méthode donne des spectres simples sans couplages C-H et nous permet d'identifier plus facilement la nature des différents carbones présents dans la molécule. Les carbones primaires CI et tertiaires CIII apparaissent sur le spectre sous forme de signaux négatifs alors que les carbones secondaires CII et quaternaires CIV sont signifiés par des signaux positifs.

**TableauII- 3:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 500 MHz,  $\delta$  (ppm) du dérivé 2

Dérivé	<u>O</u> CH <sub>2</sub>	- <u>C</u> H <sub>2</sub>	= <u>C</u> -NH	<u>C</u> =O	= <u>C</u> -CH <sub>2</sub>	S = <u>C</u> -NH <sub>2</sub>	- <u>C</u> H <sub>3</sub>
Attribution	60	25	101	163	151	176	11

La structure 2 est élucidée, en particulier, par la disparition du signal de C=O en position 7 ainsi que le CH en position 4 de la structure 1 et l'observation de deux nouveaux pics compatibles avec les carbones quaternaires >C=C< en position 4 et 5 du cycle formé pyrazolone et apparaissant respectivement aux environs de 101 ppm et 151 ppm dans la structure 2.

En plus, afin d'élucider convenablement cette structure, l'analyse cristallographique aux rayons-X de la structure **2** montre clairement la cyclisation pour la formation du noyau pyrazolone et l'ouverture du cycle lactonique par acylation en C5. Comme il apparaît l'existence d'une liaison H en N2 et la présence de la double liaison en position C3 du cycle pyrazolone.



Diffractions aux rayons X du composé **2**

Par cette analyse de diffraction aux rayons X, nous pouvons expliquer la valeur du déplacement chimique du proton de N-H du cycle pyrazolone de **2** apparaissant sur le spectre aux environs de 4.51 ppm et qui, théoriquement, devrait se signaler vers des champs plus faibles, à cause de l'éventuel équilibre tautomère  $\text{HN-C=C-C=O}$  avec  $\text{N=C-C=C-OH}$  au sein de l'hétérocycle **2**. Cette valeur s'interprète par l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH et l'atome S du groupement thioamide formant ainsi un cycle à cinq à faible interaction entre H du NH et S du thioamide. D'autant plus, il est connu que l'atome S du groupement thioamide est engagé dans l'équilibre tautomère  $\text{S=C-NH}_2$  avec  $\text{HS-C=NH}$ , ce qui diminue fortement son engagement dans la liaison hydrogène intramoléculaire.

Sur le plan stéréochimique, nous pouvons dire que la structure **2** a une configuration Z.

### II-3 Mécanisme réactionnel

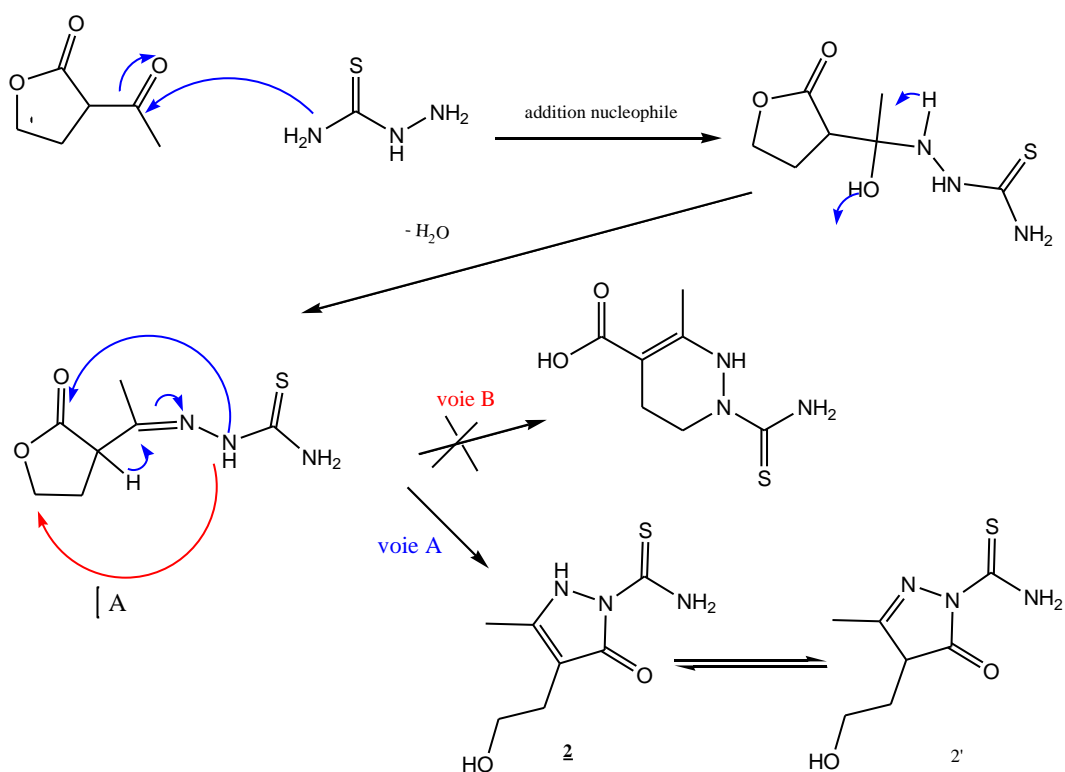
Le mécanisme proposé pour la formation de la structure **2**, s'explique dans une première étape par une réaction d'addition nucléophile de l'amine primaire la plus nucléophile du thiosemicarbazide sur le carbonyle de l'acétyle en position 7 du produit de départ **1**.

L'élimination d'une molécule d'eau, dans une seconde étape, favorise la formation d'une imine. En outre, les conditions opératoires de température ont œuvré pour l'ouverture du cycle furanique montré par l'apparition d'un proton OH par analyse RMN  $^1\text{H}$ , puis la formation d'un pyrazole par attaque du groupement NH sur le groupement carbonyle du cycle furanique.

Les nucléophiles peuvent attaquer sur le carbone C5 dans la structure **1**, dans une réaction d'acylation (voie A), préférentiellement en milieu acide ou sur le carbone C2 de la même structure, conduisant à un acide carboxylique  $\alpha$ -substitué (voie B).

Néanmoins l'analyse par RX ne laisse aucune ambiguïté quant à l'attaque sur le carbone en position 5 du cycle butyrolactone.

La présence du proton mobile en  $\alpha$  des deux groupements attracteurs un carbonyle et une imine, présents dans l'intermédiaire réactionnel [A], engendre un équilibre favorable au composé **2**.

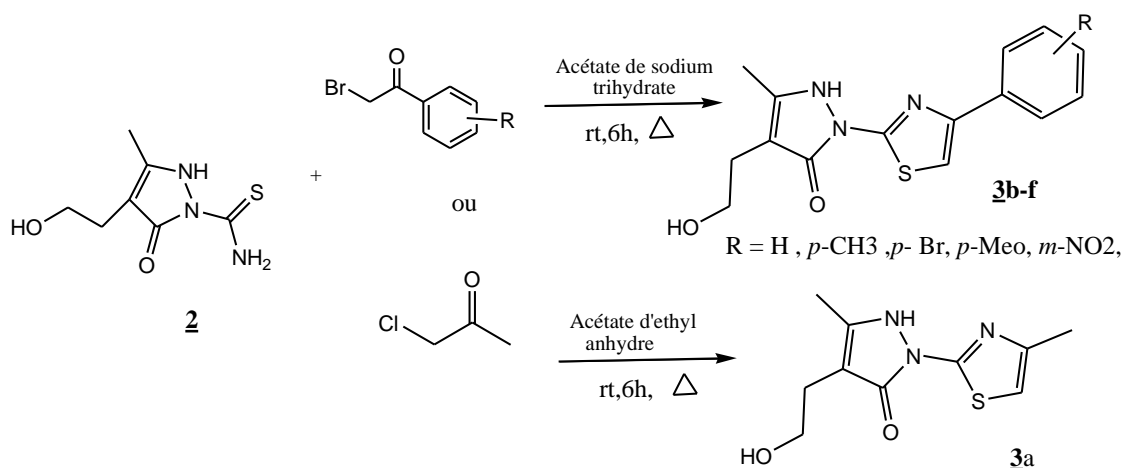


Mécanisme réactionnel proposé pour l'obtention de **2**

## II - 4 Synthèses de structures thiazolopyrazolones

Le but de cette étape est l'introduction d'un noyau thiazolique à partir du fragment thioamide présent sur la structure **2**, selon la stratégie de *Hantzsch*, réaction entre les  $\alpha$ -halocétones et les thioamides.

A cet effet la pyrazolone **2** et les  $\alpha$ -bromoacétophénonnes différemment substituées ou la chloroacétone sont mises en réaction dans de l'éthanol en présence d'une quantité catalytique d'acétate de sodium trihydraté. Le tout est porté à reflux pendant 06 heures. Le schéma suivant résume le déroulement de la réaction.



Le tableau II-4 présente les résultats obtenus dans la synthèse de la thio-pyrazolone **3**

**Tableau II-4:** Propriétés physico-chimiques des dérivés **3**

Composés	Substituant	Rdt(%)	Aspect	PF(°C)
<b>3a</b>	-CH <sub>3</sub>	70	Poudre blanc	226-227
<b>3b</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	75	Poudre beige	93-94
<b>3c</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> p-CH <sub>3</sub>	81	Poudre beige	90-91
<b>3d</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> p-Br	87	Poudre beige	222 - 223
<b>3e</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> p-OMe	82.5	Poudre beige	167-168
<b>3f</b>	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> m-NO <sub>2</sub>	57	Poudre beige	182-183

Les valeurs des rendements de la réaction, nous donnent une idée sur la réactivité des 2-bromoacétophénones différemment substituées sur le composé **2**. Nous remarquons que la 2-bromoacétophénone substituée par (R = CH<sub>3</sub>, Br, OMe) est fortement réactive vis-à-vis de **1** et fournit les rendements les plus élevés, dus aux caractères inductif et mésomère donneurs des substituants. En revanche la présence du NO<sub>2</sub> dans la 2-bromoacétophénone défavorise le rendement par son effet mésomère attracteur.

### II-5 Caractérisation des thiazolopyrazolones **3**:

Les thiazolopyrazolones **3** sont caractérisées par RMN du proton, du carbone 13 et RX

#### a. Caractérisation par RMN <sup>1</sup>H :

Nous constatons sur le spectre du composé **3a**, particulièrement, la disparition du signal attribuable au groupement NH<sub>2</sub> de la structure **2** et l'apparition du signal d'un proton éthylénique sous forme d'un singulet vers 6.88 ppm, facilement attribuable au cycle thiazole formé. L'apparition du signal des protons du groupement CH<sub>3</sub> aux alentours de 2.34 ppm, en bon rapport d'intégration, conforte la cyclisation thiazole.

De même, la structure **3b** fait apparaître en particulier un signal sous forme de multiplet à 7.34 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.45 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) et 7.99 (d, J = 7.2 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) relatif à la présence du groupement phényle.

Afin de faciliter les attributions des déplacements chimiques, nous présentons les spectres des dérivés **3a** et **3b**

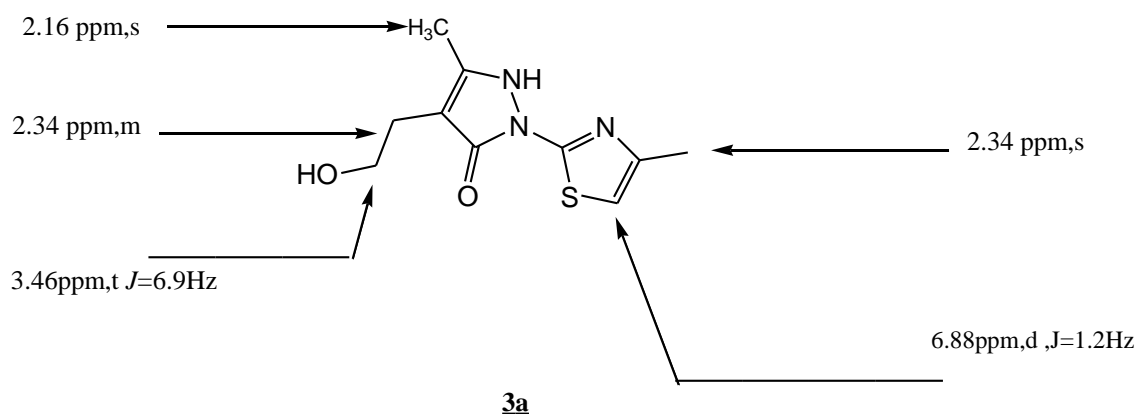


Figure II-3 : Dérivé **3a** RMN <sup>1</sup>H

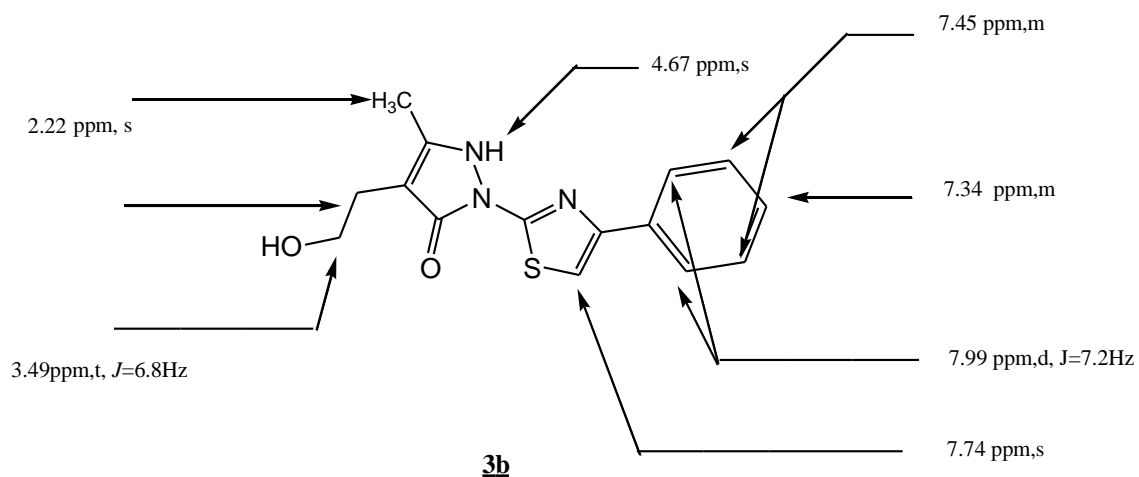
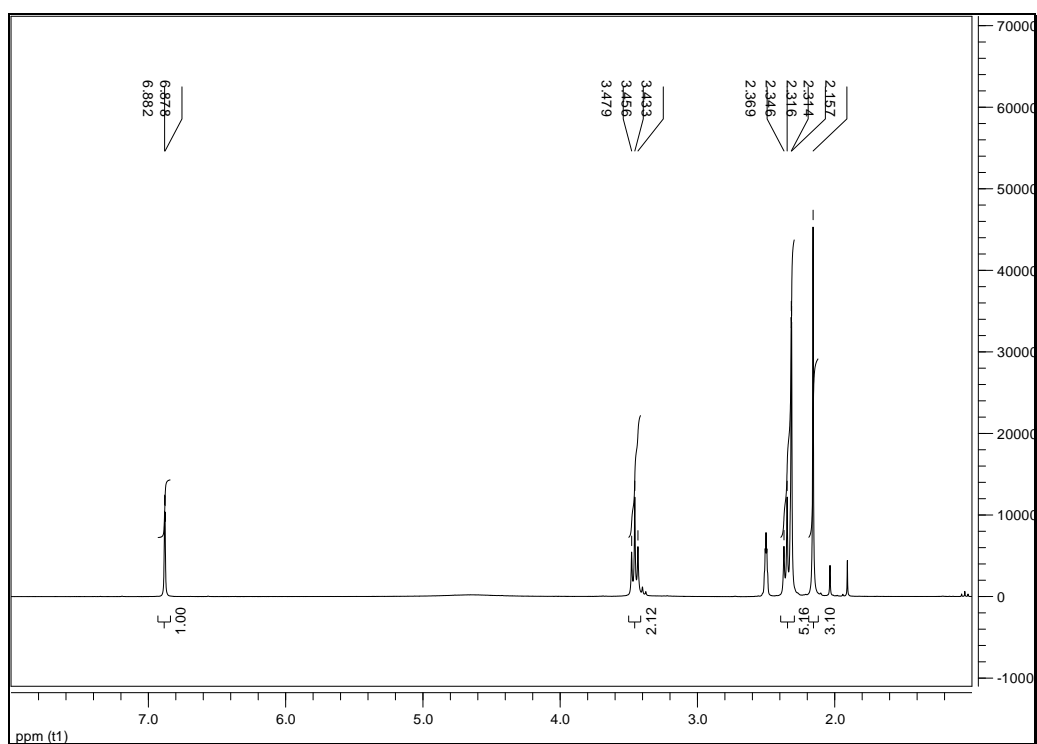
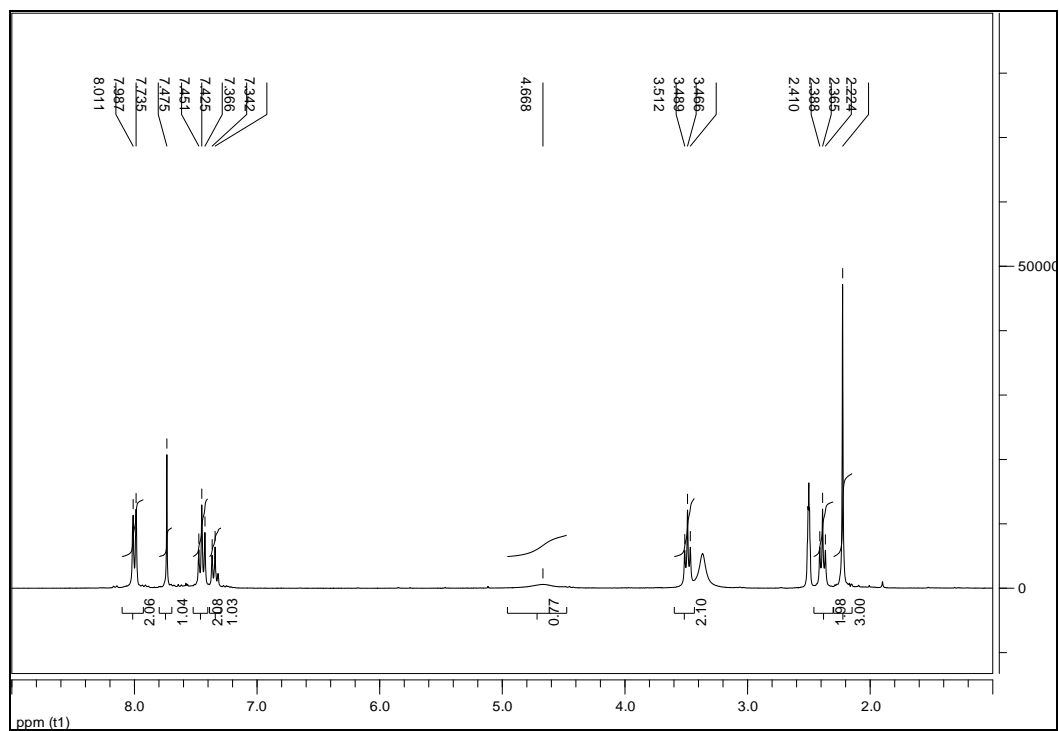


Figure II-4 : Dérivé **3b** RMN  $^1\text{H}$



Dérivé **3a** RMN  $^1\text{H}$  à 300MHz,  $\delta$  (ppm) , DMSO





Dérivé 3b RMN  $^1\text{H}$  à 300MHz,  $\delta$  (ppm) , DMSO

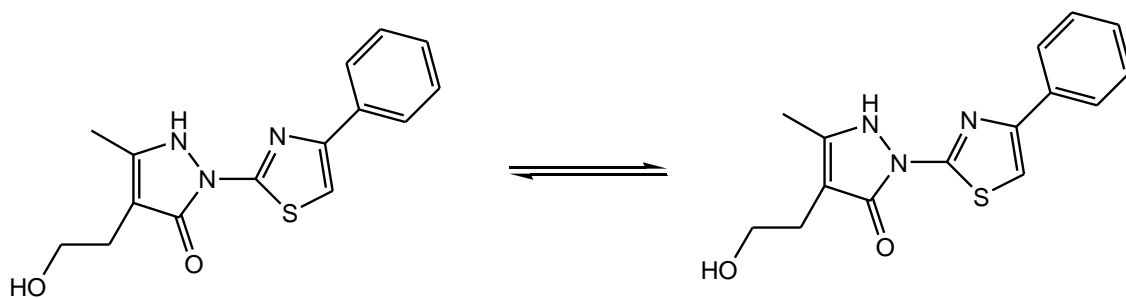
Les déplacements chimiques des différents protons sont rassemblés dans le tableau II-5

**Tableau II-5 :** Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H des dérivés **3**

Composé	RMN <sup>1</sup> H à 300MHz, $\delta$ (ppm) , DMSO
<b>3a</b>	2.16 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.34 (m, 5H, C=C-CH <sub>3</sub> and CH <sub>2</sub> ), 3.46 (t, J = 6.9 Hz, 2H, O-CH <sub>2</sub> ), 6.88 (d, J = 1.2 Hz, 1H, C=CH)
<b>3b</b>	2.22 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.39 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.49 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.67 (br. S, 1H, NH), 7.34 (m, 1H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.45 (m, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.74 (s, 1H, H-thiazol), 7.99 (d, J = 7.2 Hz, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
<b>3c</b>	2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.35 (s, 3H, CH <sub>3</sub> -Ph) 2.39 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.51 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.70 (br. S, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.45 (m, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.76 (s, 1H, H-thiazol), 7.80 (d, J = 7.23 Hz, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
<b>3d</b>	2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), , 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.55 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.70 (br. S, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.45 (m, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
<b>3e</b>	2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.80 (s, 3H,-O- CH <sub>3</sub> ) , 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.55 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.71 (br. S, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.39 (m, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.74 (s, 1H, H-thiazol), 7.10 (d, J = 7.80 Hz, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
<b>3f</b>	2.23 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3.55 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.75 (br. S, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.87 (m, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 7.68 (s, 1H, H-thiazol), 8.15 (d, J = 7.26 Hz, 2H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )

Nous constatons que le signal du proton de NH du cycle pyrazole de **2** est observé à 4.51 ppm et il passe à 4.67 ppm dans le cycle thiazolopyrazole de **3** dans le même solvant deutérié. Ce léger glissement de déplacement du NH vers des champs plus déblindés, peut s'expliquer par sa participation dans un système conjugué plus accentué dans **3** que dans **2**. En plus, nous constatons que son signal est plus large sur le spectre de **3**, ce qui conforte notre interprétation.

Donc nous pouvons proposer un schéma d'équilibre des formes limites de la structure **3** comme suit :



Equilibre proposé des formes limites de la structure **3**

Evidemment, cet équilibre tautomère n'est possible que sous la condition qu'il y aurait une libre rotation des deux cycles pyrazole et thiazole autour de la liaison  $N_1-C_2$  reliant les deux cycles. Par conséquent, cette condition exclurait l'existence d'une liaison hydrogène entre le NH du pyrazole et l'atome  $N=$  du thiazole, qui permet la libre rotation des deux cycles l'un par rapport à l'autre.

**b- Caractérisation par RMN  $^{13}C$  :**

Sur la base des données RMN  $^{13}C$ , nous résumons les déplacements chimiques des carbones comme suit :

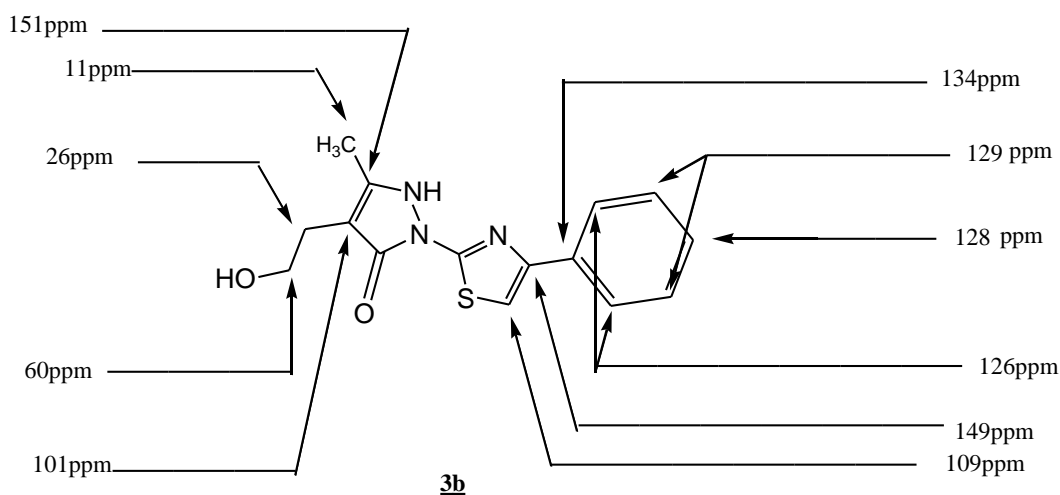
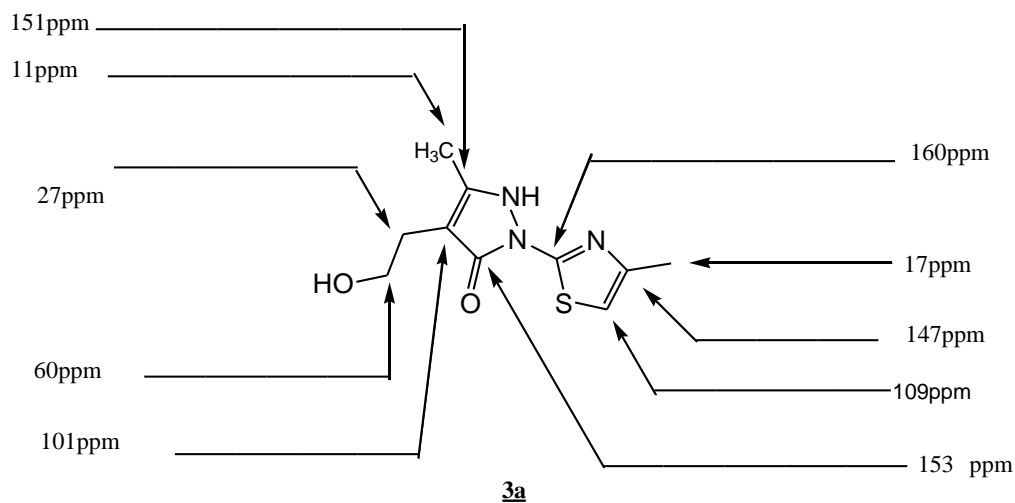


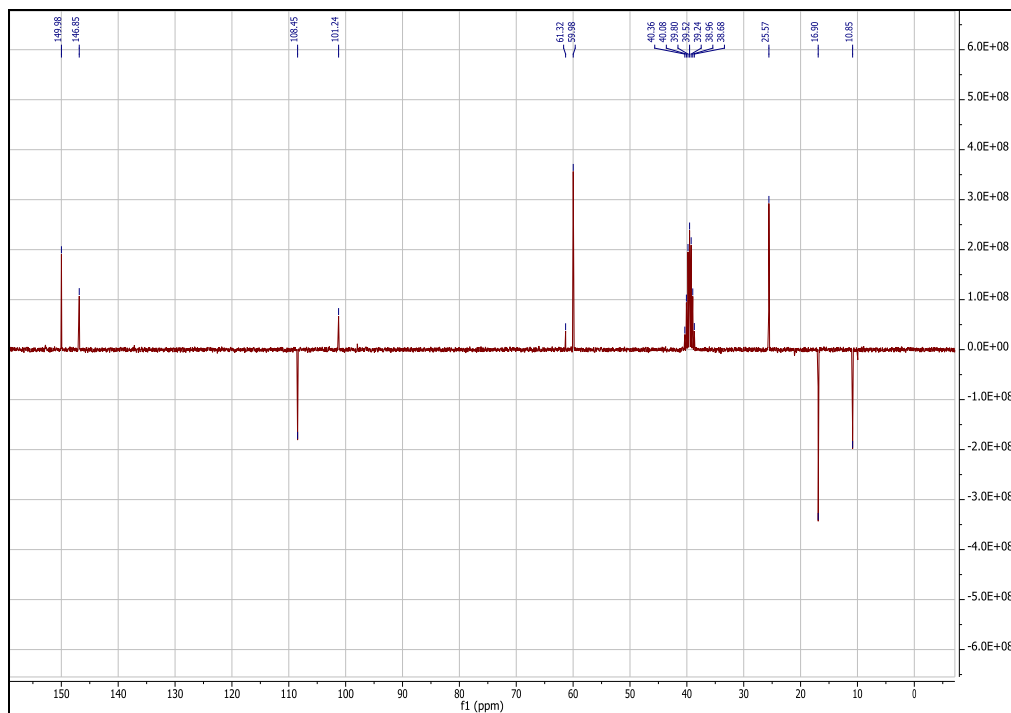
Figure II-5 : Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  de **3a** et **3b****Tableau II-6** : Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  des dérivés **3**

Dérivé Attribution*	<b>3a</b>	<b>3b</b> R= H	<b>3c</b> R= CH <sub>3</sub>	<b>3d</b> R= Br	<b>3e</b> R= MeO	<b>3f</b> R=NO <sub>2</sub>
- <u>CH</u> 3	11	11	11.	11	11	11
<u>O</u> CH2	60	60	60	60	60	60
- <u>CH</u> 2	27	26	26	26	26	26
= <u>C</u> -CH <sub>2</sub>	101	101	102	102	102	102
= <u>C</u> -NH		151	151	151	151	151
S = <u>C</u> -H	109	109	109	109	109	109
-CH= <u>C</u> -	147	149	149	149	149	149
- <u>CH</u> <sub>3</sub>	17	/	24	/	/	/

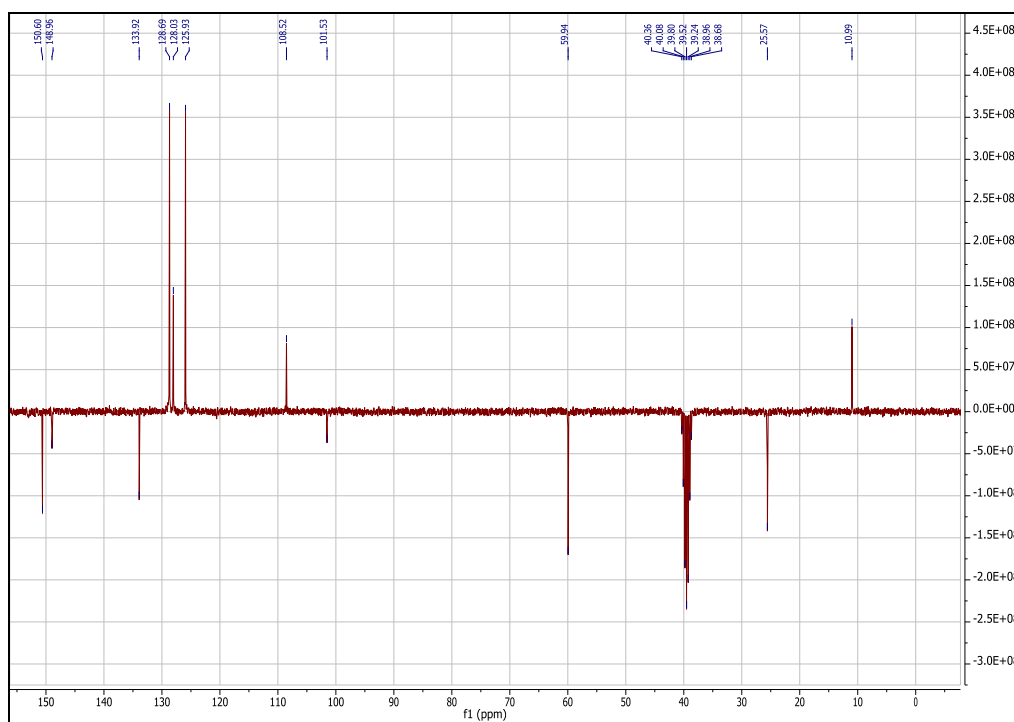
\*valeurs arrondies

Le spectre de résonance magnétique du carbone13 (RMN $^{13}\text{C}$ ) du composé **3b** enregistre la présence d'un pic à 109ppm correspondant au carbone méthylique du groupement HC=S. Nous observons de même le carbone quaternaire =C-N dans le champ faible à 149ppm, preuve de cyclisation et formation du noyau thiazolique.

La résonance des carbones du cycle benzénique apparaissent dans l'intervalle : 128- 134 ppm.

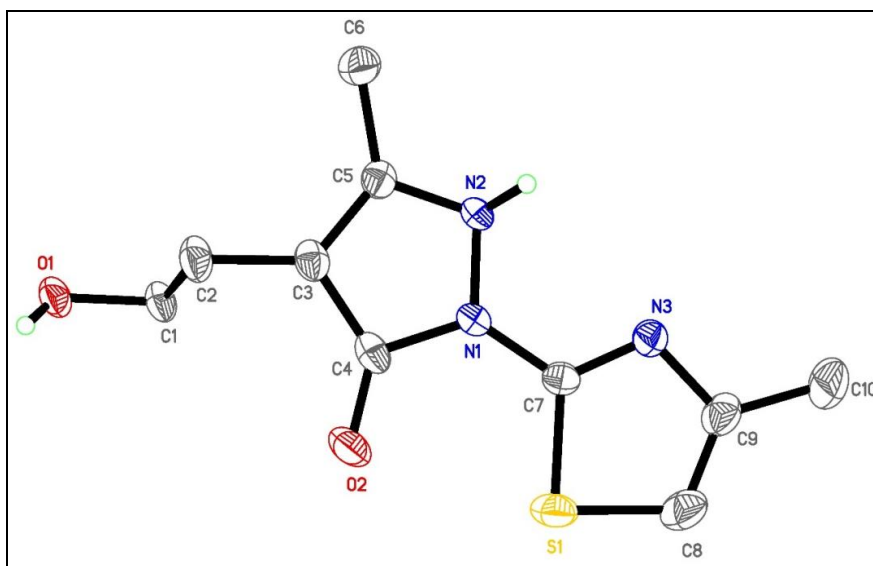


Dérivé 3a RMN  $^{13}\text{C}$ à 500MHz,  $\delta$  (ppm) , DMSO



Dérivé 3b RMN  $^{13}\text{C}$ à 500MHz,  $\delta$  (ppm) , DMSO

Les résultats du composé **3a** obtenus par analyse de diffraction aux rayons X confirment la structure proposée

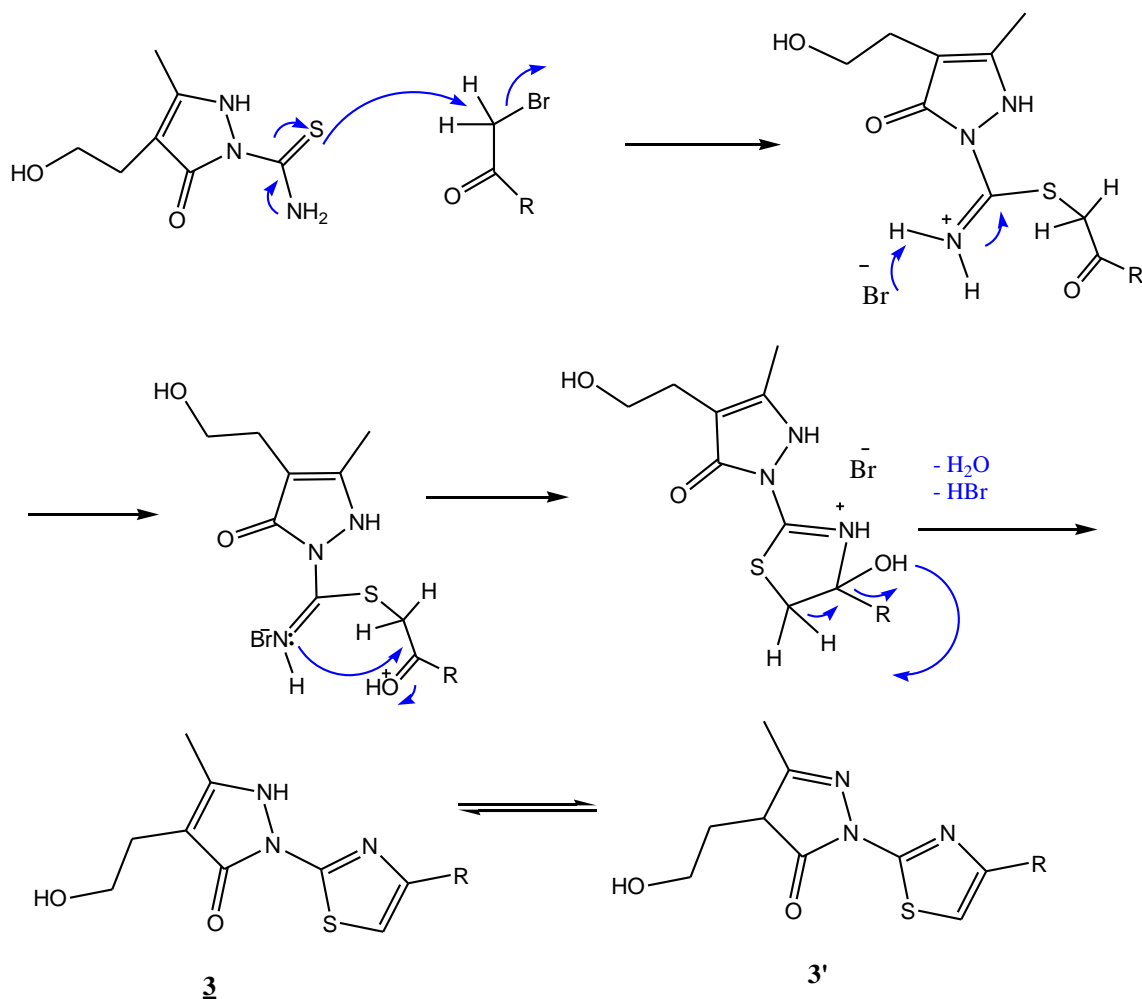


Diffractions aux rayons X du composé **3a**

Cette analyse par diffraction aux rayons X montre clairement qu'il existe un pont d'hydrogène entre le groupement NH du cycle pyrazole et l'atome d'azote N= du cycle thiazole. Cet effet bloque la libre rotation entre les deux hétérocycles et empêche la formation de l'équilibre tautomère. En plus, le glissement du déplacement chimique de H du NH de 4.51 ppm dans **2** aux environs de 4.70 ppm dans **3** s'explique par une plus forte interaction de la liaison hydrogène entre le NH du cycle pyrazolone et l'atome N du cycle thiazole, ainsi formé. Du point de vue stéréochimique, nous constatons que nous passons d'une configuration Z pour **2** pour obtenir la structure **3** de configuration E.

### II-6 Mécanisme réactionnel

A la lumière des résultats obtenus par l'analyse spectrale, nous pouvons proposer le mécanisme réactionnel suivant :



Mécanisme réactionnel proposé pour l'obtention de **3**

Il s'agit d'une condensation classique de *Hantzsch*, l'acétate de sodium qui fournit les  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  nécessaires favorise de la sorte l'attaque nucléophile du soufre sur le  $\text{CH}_2$  en position  $\alpha$  du groupement carbonyle de la 2-bromoacétophénone, en déplace l'équilibre vers le produit final. La cyclisation intramoléculaire de l'intermédiaire est obtenue par l'attaque nucléophile du groupement NH sur le fragment carbonyle adjacent au  $-\text{SH}_2$  libérant ainsi une molécule d'eau et une autre de HBr.

## **Conclusion**

Au terme de ce chapitre, nous aboutissons aux résultats suivants :

Dans la première partie du travail qui se rapporte à l'action du thiosemicarbazide sur la 2- acétylbutyrolactone, selon une stratégie décrite dans la littérature par condensation seule du groupement amine le plus basique sur le groupement carbonyle de la 2- acétylbutyrolactone afin d'aboutir à une imine, nous avons, pour notre part et compte tenu de la température mise en jeu, obtenu la cyclisation et la formation d'une pyrazolone avec ouverture du cycle furanique, même sans que la catalyse acide mentionnée dans la littérature nese soit avérée nécessaire. L'analyse spectrale en particulier par diffraction RX ne laisse aucun doute quant à l'ouverture du cycle furanique dans une réaction d'acylation et la formation du noyau sus-cité et cela avec un rendement tout à fait satisfaisant de l'ordre de 80%.

Dans la seconde partie, en procédant selon la stratégie de *Hantzsch* dans la synthèse de thiazole étant donné le grand intérêt que présente ce type de composés, nous avons pu introduire sur la structure obtenue, un noyau thiazolique grâce au fragment thioamide.

L'analyse spectrale effectuée confirme l'obtention de la structure envisagée avec des rendements variant entre 57 et 87% selon le caractère inductif donneur ou attracteur des substituants.

Nous avons ainsi pu, dans la continuité des travaux déjà réalisés au sein de notre laboratoire, apporter une nouvelle structure, obtenue de manière simple et peu coûteuse, à partir d'un produit commercial, l'acétylbutyrolactone.



## Partie expérimentale:

### *a. Présentation du matériel utilisé :*

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés à 300 MHz, sur un appareil *Bruker Avance 300*.

Les produits ont été analysés dans le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO- $d_6$ ).

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par million (ppm) et les constantes de couplage (J) en Hertz (Hz). Les signaux sont désignés par les abréviations suivantes :

s= singulet, d= doublet, t= triplet, m= multiplet .

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés à 75MHz dans le mode d'Echo spin J-modulé, à l'aide d'un appareil *Bruker Avance 500*. Les produits ont été analysés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO- $d_6$ ).

Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil *Bank Kofler HEIZBANK* type WME 50-260°C, préalablement étalonné et ne sont pas corrigés.

Les gouttes sont prises au moyen d'une pipette pasteur.

### *b. Produits chimiques utilisés :*

Tous les produits chimiques commerciaux et les solvants organiques ont été employés sans aucune purification ni distillation.

Le produit de départ, 2-acétylbutyrolactone **1** est un réactif liquide de formule brute  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*. C'est un produit destiné pour la synthèse organique. Sa pureté est de 98-99%. Sa masse molaire vaut 128,12g/mole et sa densité est de 1,19g/mL à 25°C. Le point d'ébullition est égal à 107-108°C et la solubilité dans l'eau à 20°C est de 200g/L.

Le thiosemicarbazide est un réactif en poudre blanc de formule chimique  $\text{NH}_2\text{CSNHNH}_2$ . C'est un produit de synthèse vendu par le laboratoire *Sigma-Aldrich*. Sa masse molaire vaut 91.14g/mole. Sa pureté est de 99%. Le point de fusion est égal à 180-183 °C.

Les rendements de la réaction sont calculés à partir des produits bruts.

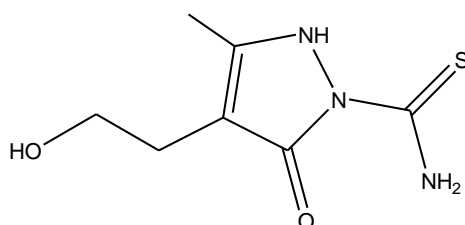
Certains produits ont été recristallisés juste avant de procéder à leur analyse.

La chloroacétone est un réactif liquide incolore de formule chimique  $C_3H_5ClO$ . C'est un produit de synthèse vendu par le laboratoire *Sigma-Aldrich*. Sa masse molaire vaut 92.52g/mole. Sa pureté est de 95%. Le point de fusion est égal à  $-44.5\text{ }^\circ\text{C}$ .

Le 2-bromoacetophenone est un réactif solide blanc de formule chimique  $C_8H_7BrO$ . C'est un produit de synthèse vendu par le laboratoire *Sigma-Aldrich*. Sa masse molaire vaut 199g/mol. Sa pureté est de 98%. Le point de fusion est égal à  $48-51\text{ }^\circ\text{C}$ .

Les rendements de la réaction sont calculés à partir des produits bruts. Certains produits ont été recristallisés juste avant de procéder à leur analyse

#### 4-(2-Hydroxyéthyl)-5-méthyl-3-oxo-1H-pyrazol-2-carbothioamide **2**

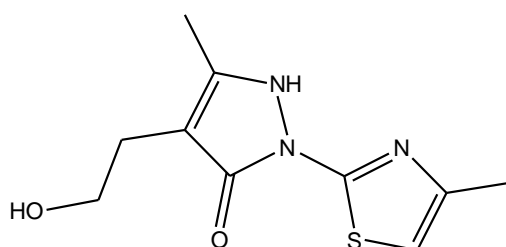


Rdt(%) : 80%  
Aspect: solide blanc  
PF( $^\circ\text{C}$ ) = 172-173  $^\circ\text{C}$   
M( $C_7H_{11}N_3O_2S$ ) = 201

Un mélange équimolaire composé de 1ml de l'acétylbutyrolactone **1** et 0.911g de thiosemicarbazide est dissous dans 15 à 20mL de méthanol. Le mélange réactionnel ainsi formé est porté à reflux pendant 6h, puis maintenu sous agitation magnétique à température ambiante jusqu'à l'apparition d'un précipité. La filtration sous vide permet l'obtention d'un solide blanc.

$^1\text{H-NMR}$  ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  (ppm), 2.16 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.28 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $CH_2$ ), 3.41 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H,  $CH_2$ ), 4.51 (s, 1H, NH), 9.61 (s, 1H,  $NH_2$ ), 10.39 (s, 1H,  $NH_2$ ), 11.59 (s, 1H, NH).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $d_6$ -DMSO) (ppm), 10.7, 25.3, 59.8, 100.7, 150.9, 162.9, 175.8. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ), 3362, 3290, 3126, 2944, 2880, 1651, 1600, 1569, 1518, 1435. MS/ESI,  $m/z$  202 ( $MH^+$ ).

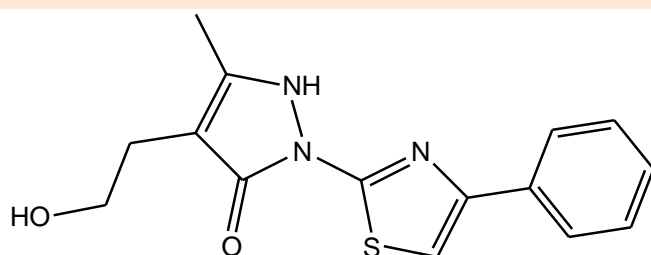
#### 4-(2-Hydroxyéthyl)-5-méthyl-2-(4-méthylthiazol-2-yl)-1H-pyrazol-3-one (**3a**).



Rdt(%) : 70%  
Aspect: solide blanc  
PF( $^\circ\text{C}$ ) = 226-227  $^\circ\text{C}$   
M( $C_{10}H_{13}N_3O_2S$ ) = 239

Le composé **2** (2.01 g, 0.01 mole) et l'acétate sodium (0.82 g, 0.01 mole) sont mélangés dans l'éthanol (50 ml) et ajouter à la chloroacétone (0.92 g, 0.01 mole). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le précipité est filtré. Rdt, 70 %; mp, 226-227 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) σ (ppm), 2.16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.34 (m, 5H, C=C-CH<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub>), 3.46 (t, J = 6.9 Hz, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6.88 (d, J = 1.2 Hz, 1H, C=CH), 11.76 (s, 1H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) (ppm), 10.9, 16.9, 25.6, 60.0, 101.2, 108.5, 146.8, 150.0, 152.8, 159.9. IR (cm<sup>-1</sup>), 3225, 3096, 2938, 1634, 1599, 1535, 1522, 1492. MS/ESI, m/z 240 (MH<sup>+</sup>).

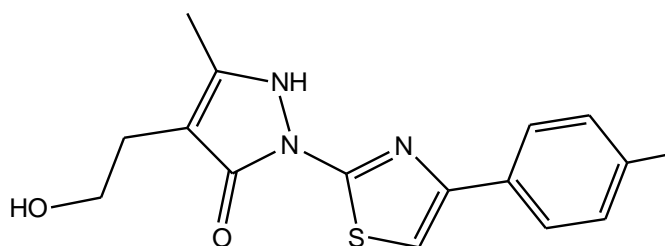
4-(2-Hydroxyéthyl)-5-méthyl-2-(4-phénylthiazol-2-yl)-1H-pyrazol-3-one (**3b**).



Rdt(%) : 75%  
Aspect: solide beige  
PF(°C) = 93-94 °C  
M(C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S) = 301

Le composé **2** (2.01 g, 0.01 mole) et l'acétate sodium (0.82 g, 0.01 mole) sont mélangés dans l'éthanol (50 mL). 1.99 g, (0.01 mole) de 2-bromoacetophenone y est ajouté, le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. après refroidissement le précipité est filtré, lavé à l'eau, et séché sous vide. Rdt, 75 %; mp, 93-94 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 2.22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.39 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.49 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.67 (br. s, 1H, NH), 7.34 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.45 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.74 (s, 1H, H-thiazol), 7.99 (d, J = 7.2 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 11.0, 25.6, 59.9, 101.5, 108.5, 125.9, 128.0, 128.7, 133.9, 148.9, 150.6. IR (cm<sup>-1</sup>), 3299, 2927, 2861, 1626, 1582, 1537, 1505. MS/ESI, m/z 302 (MH<sup>+</sup>).

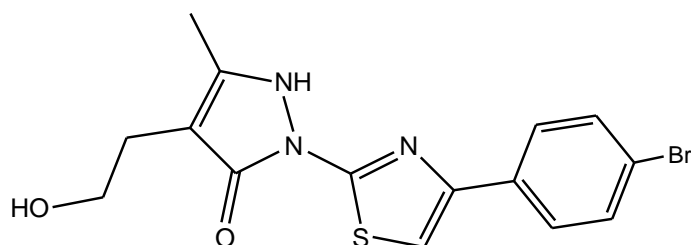
1,2-dihydro-4-(2-hydroxyéthyl)-5-méthyl-2-(4-p-tolylthiazol-2-yl)pyrazol-3-one (**3c**)



Rdt(%) : 81%  
Aspect: solide beige  
PF(°C) = 90-91 °C  
M(C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S) = 315

Le composé **2** (2.01 g, 0.01 mole) et l'acétate de sodium (0.82 g, 0.01 mole) sont mélangés dans l'éthanol (50 mL). 2.13g. (0.01 mole) de 2-bromo-4'-méthylacetophenone y est ajouté, le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. après refroidissement le précipité est filtré, lavé à l'eau, et séché sous vide. Rdt, 81 %; mp, 90-91 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 2.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ph) 2.39 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.51 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.70 (br. s, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.45 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.76 (s, 1H, H-thiazol), 7.80 (d, *J* = 7.23 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 11.0, 24.3, 25.6, 60.4, 101.5, 108.5, 125.9, 128.0, 129, 138.4, 148.9, 150.6. MS/ESI, *m/z* 316 (MH<sup>+</sup>).

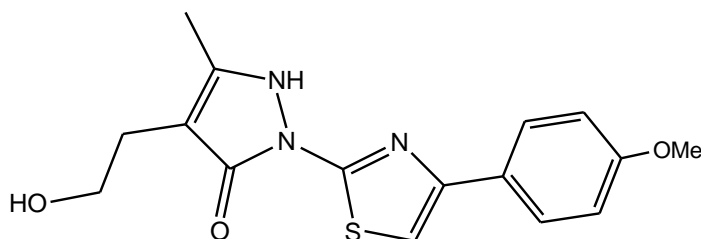
2-(4-(4-bromophényl)thiazol-2-yl)-1,2-dihydro-4-(2-hydroxyéthyl)-5-méthylpyrazol-3-one (**3d**)



Rdt(%) : 87%  
Aspect: solide beige  
PF(°C) = 222-223°C  
M(C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S) = 378

Le composé **2** (2.01 g, 0.01 mole) et l'acétate de sodium (0.82 g, 0.01 mole) sont mélangés dans l'éthanol (50 mL). 2.77 g, (0.01 mole) de 2-bromo-4'-bromoacetophénone y est ajouté, le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. après refroidissement le précipité est récupéré de la même manière que **3c**. Rdt, 87 %; mp, 222-223 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 2.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.55 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.70 (br. s, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.45 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.76 (s, 1H, H-thiazol), 8.10 (d, *J* = 7.80 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 11.0, 25.6, 60.4, 101.5, 108.5, 125.9, 128.0, 132, 123.1, 148.9, 150.6. MS/ESI, *m/z* 379 (MH<sup>+</sup>).

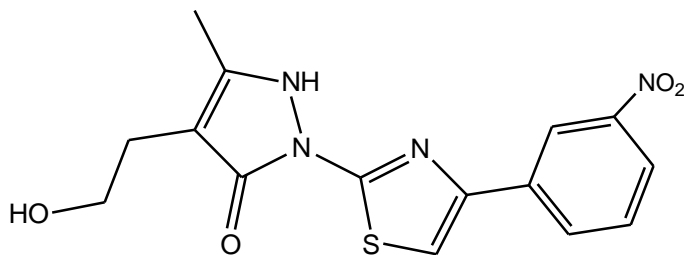
*1,2-dihydro-4-(2-hydroxyéthyl)-2-(4-(4-méthoxyphenyl)thiazol-2-yl)-5-méthylpyrazol-3-one (3e)*



Rdt(%) : 82.5%  
Aspect: solide beige  
PF(°C) = 167-168°C  
M(C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S) = 318

Le composé **3e** est obtenu de la même manière que les dérivés **3** précédents à partir de 2.29 g, (0.01 mole) de 2-bromo-4'-méthoxyacétophénone. Rdt, 82.5 %; mp, 167-168 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 2.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.80 (s, 3H, -O-CH<sub>3</sub>), 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.55 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.71 (s, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.39 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.74 (s, 1H, H-thiazol), 7.10 (d, J = 7.80 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 11.0, 60.3, 25.6, 60.4, 101.5, 108.5, 125.9, 128.0, 132, 160.1, 148.9, 150.6.. MS/ESI, m/z 319 (MH<sup>+</sup>).

*1,2-dihydro-4-(2-hydroxyéthyl)-5-méthyl-2-(4-(3-nitrophényl)thiazol-2-yl)pyrazol-3-one (3f)*



Rdt(%) : 57%  
Aspect: solide beige  
PF(°C) = 182-183°C  
M(C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S) = 329

De même, le composé **3f** est obtenu de la même manière que les dérivés **3** précédente à partir de 2.44 g, (0.01 mole) de 2-bromo-3'-nitroacétophénone après cinq jours de reflux. Rdt, 57 %; mp, 182-183 °C; <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 2.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.55 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.75 (s, 1H, NH), 7.32 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.87 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.68 (s, 1H, H-thiazol), 8.15 (d, J = 7.26 Hz, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) δ (ppm), 11.0, 60.3, 25.6, 60.4, 101.5, 108.5, 125.9, 121.0, 122, 133, 134, 148.1, 148.9, 150.6.. MS/ESI, m/z 330. (MH<sup>+</sup>).

## Chapitre III

### Synthèse à partir de DHA

## Introduction

En continuité des résultats que nous avons obtenus dans notre laboratoire [121-123-124] [228-232][234] à partir du DHA. Dans cette partie de travail et dans un souci de synthétiser de nouvelles structures hétérocycliques [237] à partir de cette molécule susceptibles de présenter une activité biologique potentielle. Nous rapportons la synthèse de nouvelles structures pyrazoles et de structures condensées thiazolepyrimidinepyrazole.

Dans la démarche de synthèse adoptée, l'élaboration de ces séries de composés originaux répondent à la préoccupation d'obtenir des dérivés dont les analogues structuraux sont doués d'activités biologiques intéressantes

**III-1 le 3-(2-Carbamothioylhydrazino)-5-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-pyran-3-yl)-3,4-dihydropyrazol-2-carbothioamide 6**

Obtenu en deux étapes, la synthèse du dérivé 6 est schématisée comme suit (schéma III-1) :

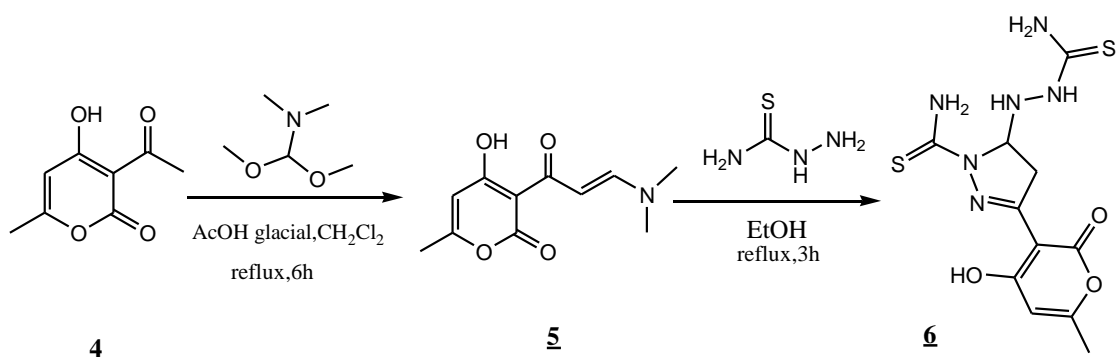


Schéma III-1 : Synthèse du composé 5

### III-1-1 synthèse du cinnamoyle 5

Nous avons obtenu un cinnamoyle de DHA par la condensation d'une solution équimolaire de DHA et de N,N-diméthylformamide diméthylacétal. Cette réaction est décrite dans la littérature en milieu basique par la présence de la triméthylamine dans l'éthanol. Pour notre part, nous avons opté pour une catalyse acide par la présence d'acide acétique glacial dans le dichlorométhane.

Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 6 h. Nous avons isolé un seul produit avec un rendement de 65%.

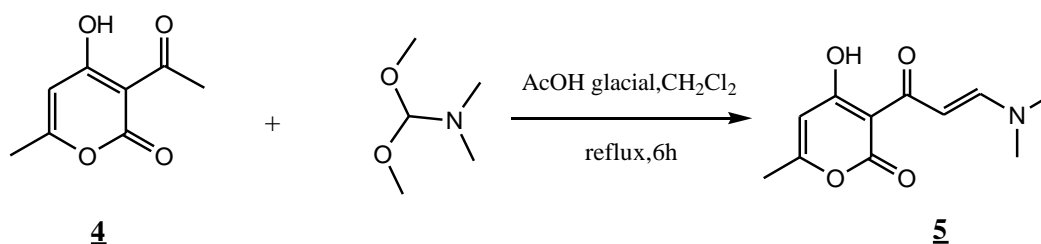


Schéma III-2 : Synthèse de cinnamoyle de DHA

Le tableau III-1-1 présente les résultats obtenus dans la synthèse du composé **5**.

**Tableau III-1-1: Propriétés physico-chimiques du dérivé **5****

Composés	Rdt(%)	Aspect	PF(°C)
<b>5</b>	65	<b>Poudre Jaune</b>	170-172 °C

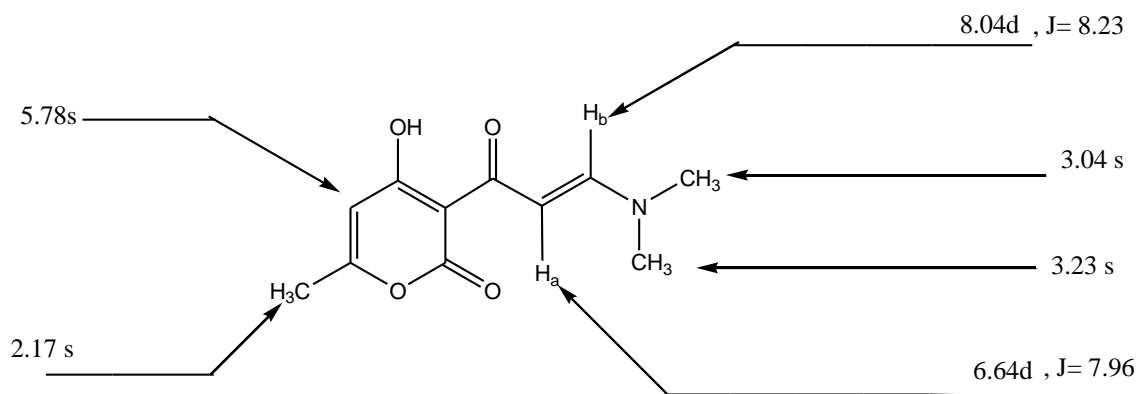
### III-1-1-1 Caractérisation du composé **5**:

Le composé **5** est caractérisé par RMN du proton, du carbone 13

#### a. Caractérisation par RMN <sup>1</sup>H :

Nous constatons sur le spectre du composé **5**, particulièrement : la disparition du signal attribuable aux protons du -CH<sub>3</sub> du groupement acétyle en position 3b du DHA, l'apparition d'un système diméthylamino à 3.04 et 3.23 ppm et l'apparition des signaux attribuables aux protons aromatiques, un système AB à environ 6.64 ppm, et 8,04 ppm,

Nous rapportons dans le tableau III.1.2 les résultats spectroscopiques de RMN<sup>1</sup>H à 300MHz dans CDCl<sub>3</sub>.

Figure III-1 : Dérivé **5** RMN <sup>1</sup>H



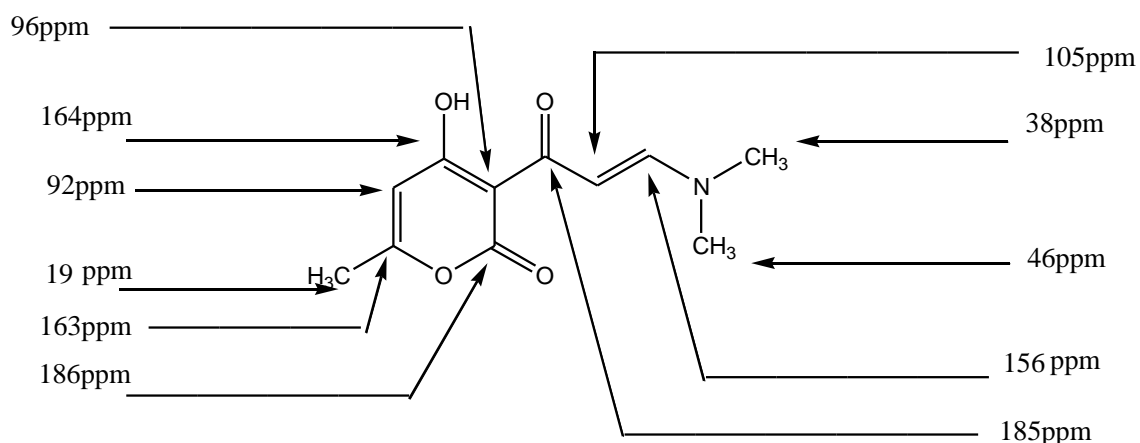
**Tableau III- 1-2 :** Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H du dérivé **5**

Composé	RMN <sup>1</sup> H à 300MHz, δ (ppm)
<b>5</b>	2.17(s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.04(s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.23(s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 5.78 (s, 1H, CH=C), 6.64 (d, 1H, J=7.96, CH=CH <sub>a</sub> ), 8, 04(d, 1H, J=8.23, CH <sub>b</sub> =CH),

**b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup>C :**

Les données du spectre RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) confirment la structure **5** en particulier par l'apparition des pics affectés aux carbones portés par l'azote respectivement à 38 ppm, et 46 ppm.

- Disparition du signal attribuable au carbone du groupement acétyle en position 3b du DHA généralement apparent vers 26ppm
- Observation de deux nouveaux pics compatibles avec les carbones éthyléniques -CH=CH-N< respectivement à 105et 156ppm

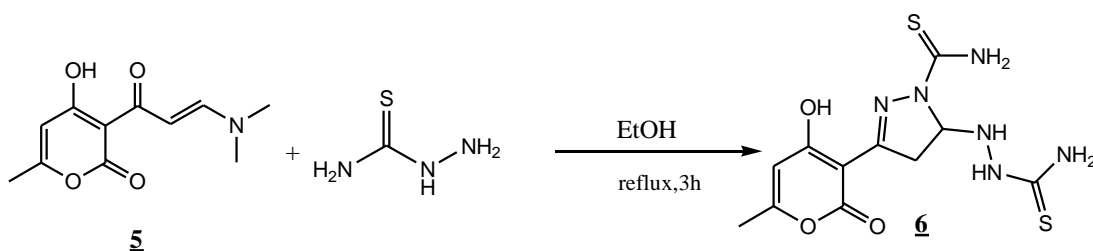
Figure III-2 : Dérivé **5** RMN <sup>13</sup>C

**Tableau III-1-3:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz,  $\delta$  (ppm) du dérivé **5**

Dérivé	Attribution
<u>-CH</u> 3	19
H <sub>3</sub> C- <u>C</u> -O-	163
>C= <u>CH</u> -	92
= <u>C</u> -OH	164
> <u>C</u> =	96
- <u>CH</u> =CH	105
= <u>CH</u> -N<	156
> <u>C</u> =O	185
O- <u>C</u> =O	186
<u>CH</u> <sub>3</sub> -N-	38
<u>CH</u> <sub>3</sub> -N-	46

### III-1-2 Synthèse du composé **6**

Le composé **6** a ensuite été préparé par chauffage à reflux d'une solution éthanolique équimolaire du composé **5** et de la thiosemicarbazide pendant 3 heures. Le précipité obtenu a été filtré pour donner le composé **6** avec un rendement de 37%.

Schéma III-3 Synthèse du composé **6**

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus dans la synthèse du composé **6**.

**Tableau III-1-4 :** *Propriétés physico-chimiques du dérivé **6***

Composés	Rdt (%)	Aspect	PF(°C)
<b>6</b>	37	<b>Poudre jaune</b>	247-248

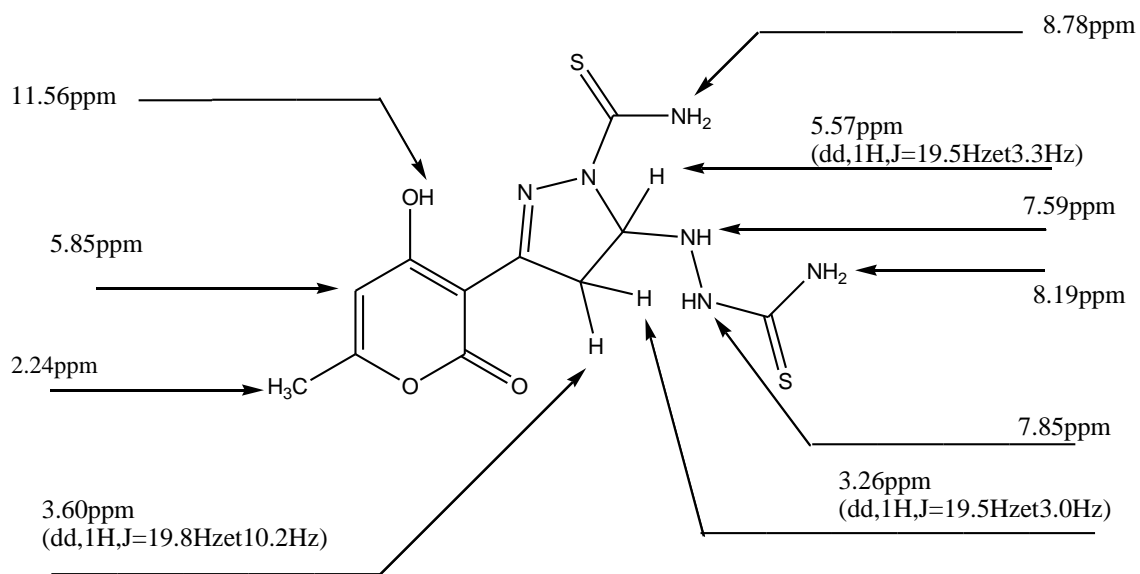
### III-1-2-1 Caractérisation du composé **6**:

Le pyrazole **6** est caractérisé par RMN du proton, du carbone 13 et RX

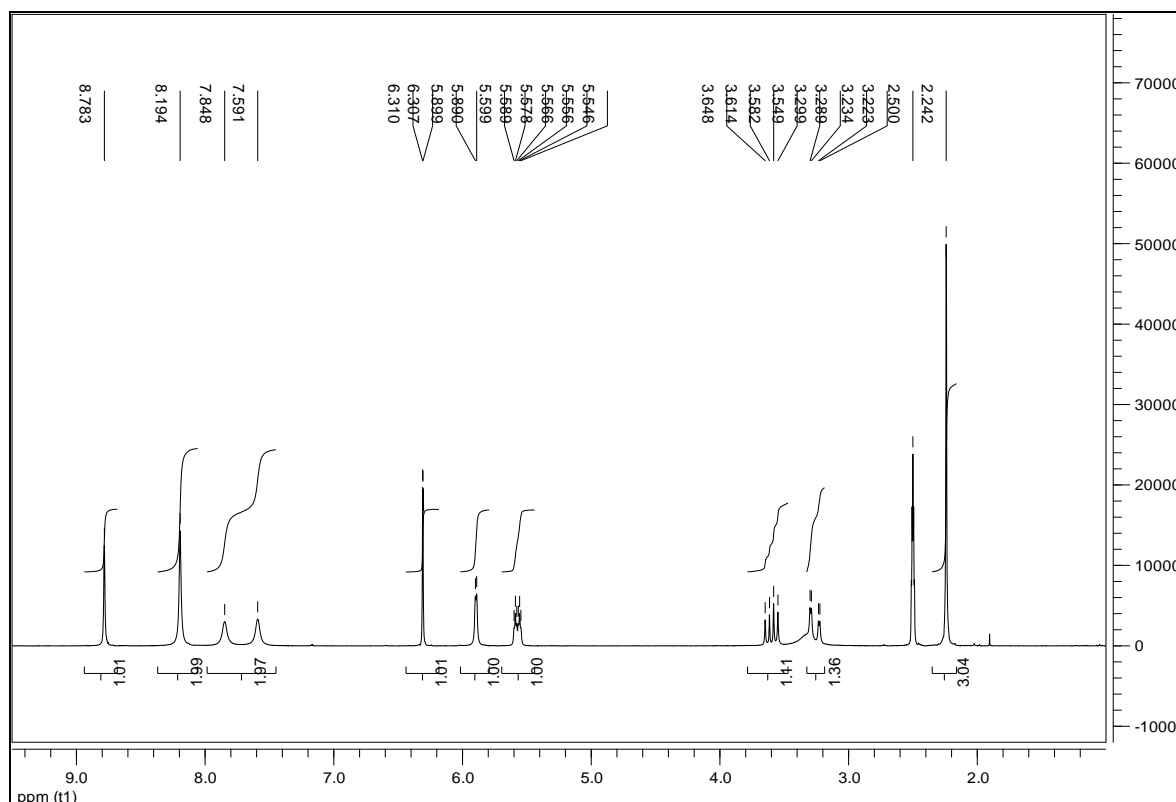
#### a. Caractérisation par RMN <sup>1</sup>H :

Nous remarquons en particulier :

- La disparition des signaux attribuables aux protons éthyléniques du système AB à 6.64 ppm, et 8.04 ppm, apparents sur la structure **5**
- La disparition des signaux relatifs au système diméthylamino observés à 3.04 et 3.23 ppm.
- L'apparition d'un signal sous forme d'un doublet dédoublé vers 5.57 ppm affecté à un CH.
- L'apparition d'un signal sous forme d'un doublet dédoublé vers 3.26 et 3.6 ppm correspondant à un groupement méthylène

FigureIII- 3 : Dérivé **6** RMN <sup>1</sup>H**TableauIII-1-5** : Caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H du dérivé **6**

Composé	RMN <sup>1</sup> H (d <sub>6</sub> -DMSO, 300 MHz) 5 (ppm)
<b>6</b>	11.56 (s,large, 1H, OH), 8.78 (s, 1H, NH), 8.19 (s, 2H,NH <sub>2</sub> ), 7.85 (s, large, 1H, NH), 7.59 (s, large, 1H, NH), 6.31 (s,1H, NH), 5.89 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.24 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 5.57 (dd, 1H, J = 6.9 Hz,3.3 Hz, CH), 3.60 (dd, 1H, J = 19.8 Hz, 10.2 Hz, CH <sub>2</sub> ),3.26 (dd, 1H, J = 19.5 Hz and 3.0 Hz, CH <sub>2</sub> ).



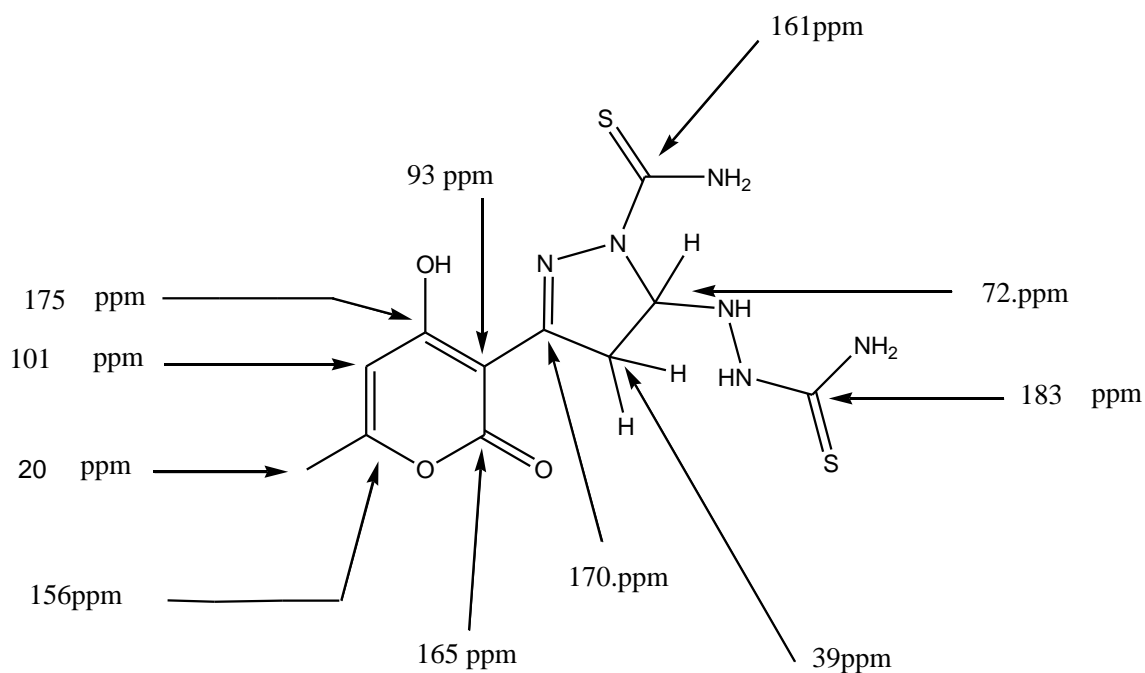
### Dérivé 6 RMN <sup>1</sup>H (d<sub>6</sub>-DMSO, 300 MHz) 5 (ppm)

Ainsi, les caractéristiques spectrales RMN <sup>1</sup>H sont en bon accord avec la structure proposée. Pour plus de certitude nous avons soumis le composé à une analyse RMN <sup>13</sup>C.

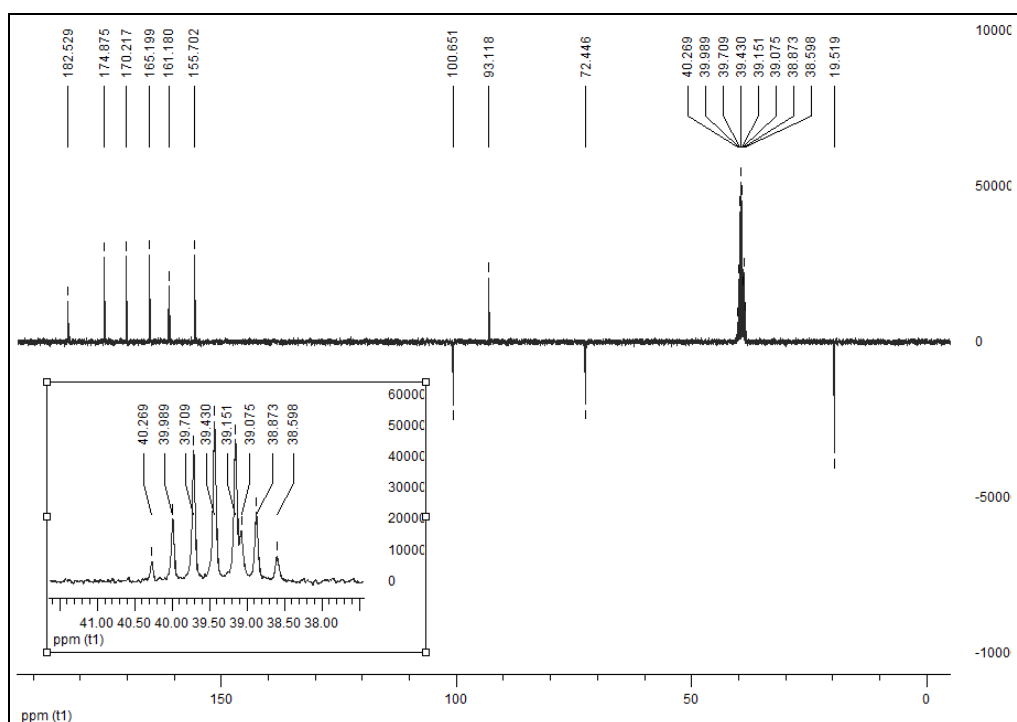
#### b. Caractérisation par RMN <sup>13</sup>C :

La RMN <sup>13</sup>C révèle les observations suivantes :

- Disparition du signal de la fonction carbonyle de l'acide déhydroacétique apparente vers 187 ppm
- Disparition des signaux correspondant aux deux CH<sub>3</sub> du groupement amine.
- Apparition d'un signal correspondant à la formation d'un carbone quaternaire fortement déblindé vers 170 ppm.
- Apparition d'un signal à 72 ppm et 39 ppm affectés respectivement à un carbone tertiaire et l'autre secondaire.

Figure III-4 : Dérivé **6** RMN  $^{13}\text{C}$ 

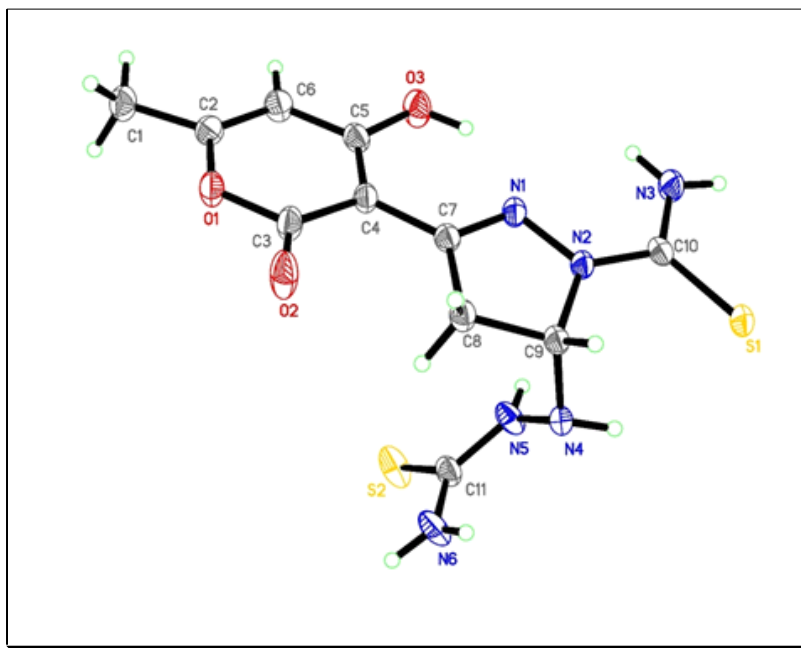
Sur la base des données RMN  $^{13}\text{C}$ , nous résumons les déplacements chimiques des carbones

Dérivé **6** RMN  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz,  $\delta$  (ppm) dans le  $\text{d}_6\text{DMSO}$

**Tableau III-1-6:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz,  $\delta$  (ppm) dans le  $\text{d}_6$ -DMSO du dérivé **6**

Fragment	Attribution
<u>CH</u> 3	20
$\text{H}_3\text{C}-\underline{\text{C}}-\text{O}-$	156
$>\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}-$	101
$=\underline{\text{C}}-\text{OH}$	175
$>\underline{\text{C}}=$	93
$>\text{C}=\text{O}$	165
$>\text{C}=\text{N}$	170
$\text{S}=\underline{\text{C}}-\text{NH}_2$	183
$-\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}$	101
$-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{N}-$	39
$\text{S}=\underline{\text{C}}-\text{NH}_2$	183

Les résultats obtenus vont dans le sens de la structure proposée, pour plus de détails nous avons soumis la structure à l'analyse par diffractions aux rayons X.



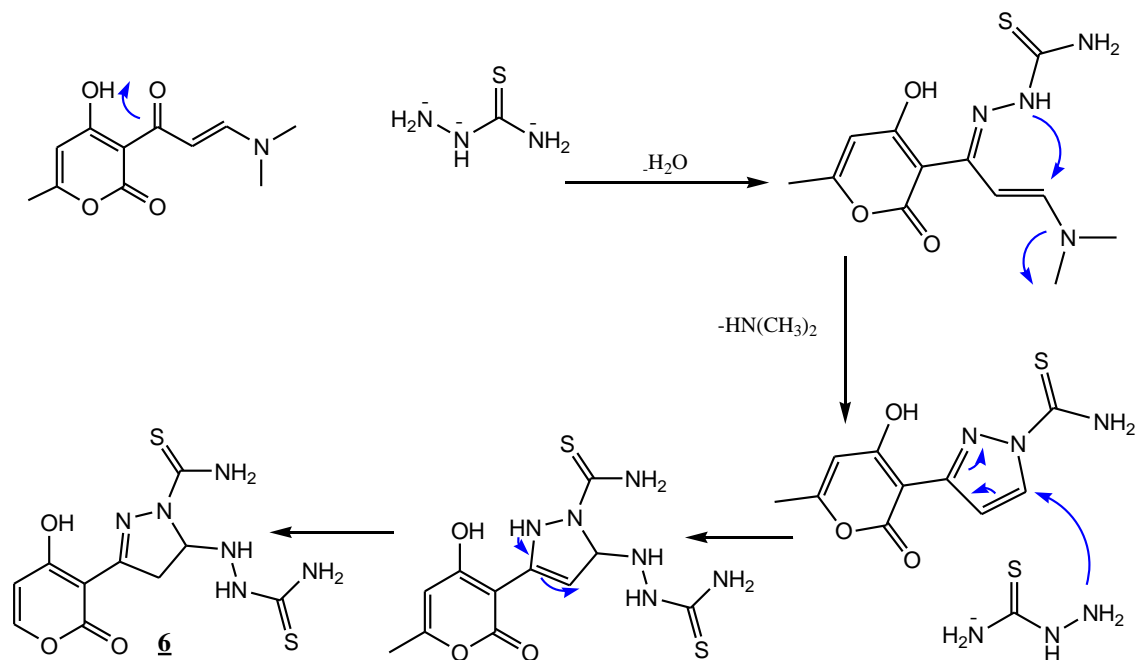
### Diffractions aux rayons X du composé 6

L'analyse par rayons X confirme la cyclisation et la formation du pyrazole et révèle la présence d'une deuxième molécule de thiosemicarbazide qui est venue se greffer sur le pyrazole empêchant de la sorte la possibilité d'une seconde cyclisation.



## III-1-2-2 Mécanisme réactionnel

Compte tenu des résultats obtenus par l'analyse spectrale nous proposons le mécanisme réactionnel suivant :



Mécanisme réactionnel proposé pour le composé **6**

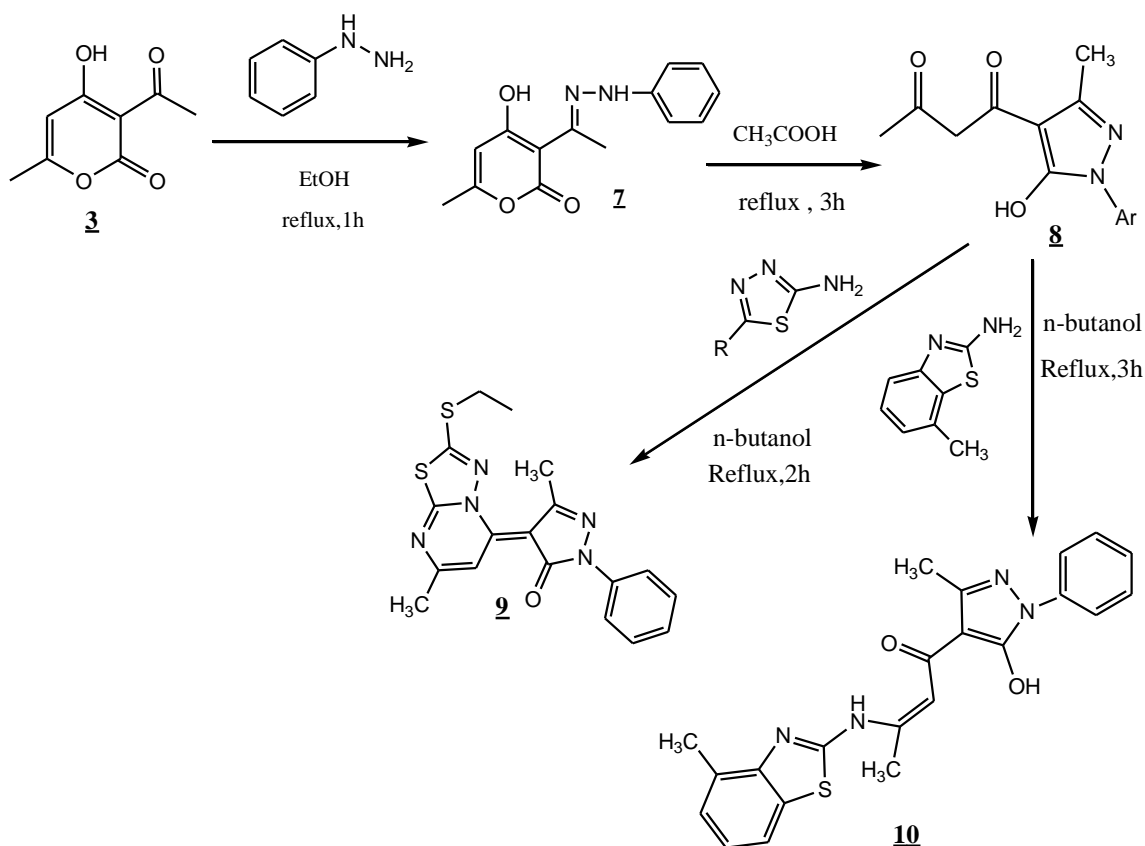
Dans un premier temps, il s'agit d'une attaque nucléophile de l'azote le plus nucléophile de la thiosemicarbazide sur le carbonyle du cinnamoyle entraînant le départ d'une molécule d'eau.

Dans un deuxième temps, nous avons le départ d'une molécule de diméthylamine par attaque du groupement NH de la thiosemicarbazide laissant place à la cyclisation pour la formation d'un pyrazole.

En conclusion, nous pouvons dire que si le rendement de cette réaction est de 37% , cela s'explique par l'implication d'une deuxième molécule de la thiosemicarbazide dans la formation de la structure **6**. Donc, pour augmenter le rendement de cette réaction il est nécessaire de varier la stœchiométrie.

**III-2** La (4E)-4-(2-Ethylsulfanyl-7-méthyl-[1,3,4] thiadiazolo[3,2-a] pyrimidin-5-ylidene)-5-méthyl-2-phenyl-pyrazol-3-one **9**

La synthèse de cette structure condensée thiazolpyrimidinepyrrazole est réalisée en trois étapes comme schématisé ci-après :

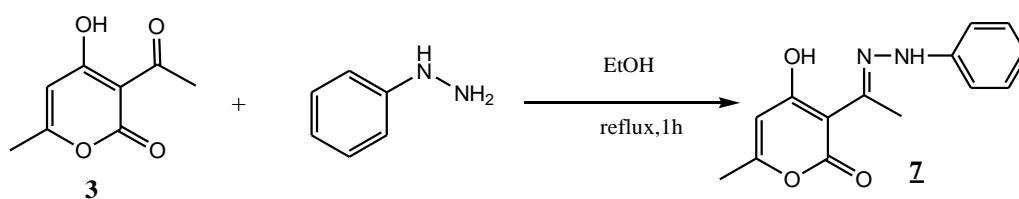


SchémaIII-4 : Synthèse de structure condensée thiazolpyrimidinepyrrazole

III-2-1 Synthèse du composé **7**

Dans une première étape nous avons réalisé la synthèse de la cétimine **7** à partir de l'acide déhydroacétique et le phénylhydrazine dans l'éthanol ; le tout porté sous agitation à reflux pendant 1heure [189].

Un précipité jaune est obtenu avec un rendement de 85%



SchémaIII-5 : Synthèse du composé **7**

Le tableau III-2-1 présente les résultats obtenus dans la synthèse du composé **7**.

**Tableau III-2-1** : Propriétés physico-chimiques du dérivé **7**

Composés	Rdt(%)	Aspect	PF(°C)
<b>7</b>	85	Poudre Jaune	200-200 °C

### III-2-2 Synthèse du pyrazolyl butanedione **8**

Une solution de **7** est chauffée à reflux dans de l'acide acétique sous agitation magnétique pendant 3 h selon une voie décrite [189]. L'ouverture du cycle pyronique aboutit au composé **8** sous la forme d'une poudre jaune qui pourrait exister théoriquement sous plusieurs formes tautomères.

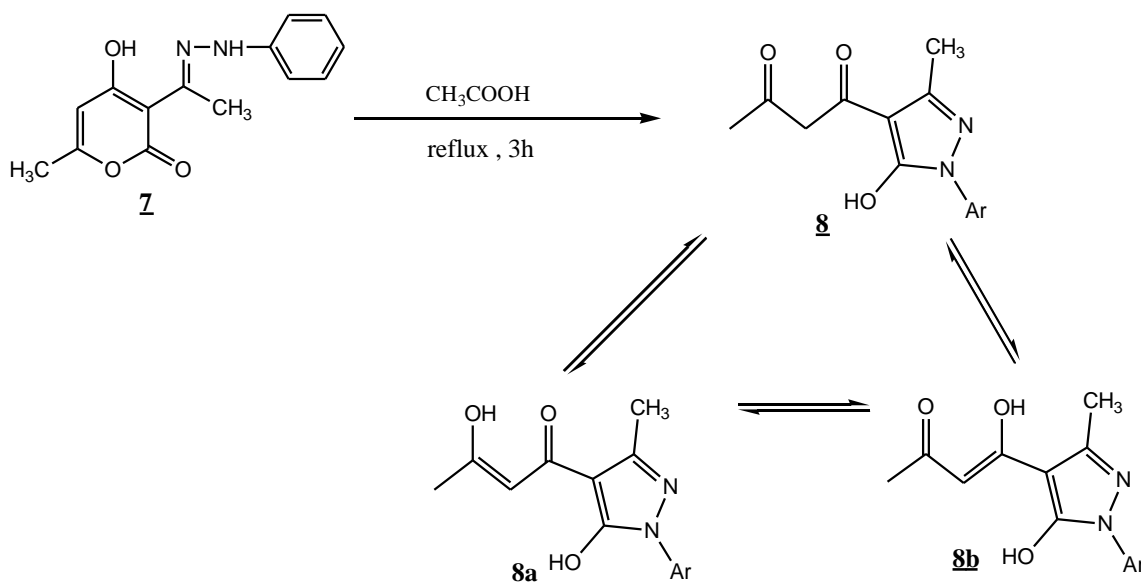


Schéma III-6 : Synthèse du pyrazolyl butanedione **8**

**Tableau III-2-2** : Propriétés physico-chimiques du dérivé **8**

Composés	Rdt(%)	Aspect	PF(°C)
<b>8</b>	73	Poudre jaune	101-101 °C

III-2-2-1 Caractérisation du composé **8**:a. Caractérisation par RMN  $^1\text{H}$  :

L'étude spectroscopique par RMN  $^1\text{H}$  dans le  $\text{CDCl}_3$  à 300MHz confirme la présence de deux tautomères **8a** et **8b** prédit théoriquement et cela par la présence :

- De deux pics larges attribuables aux protons de l'hydroxyle
- De deux singulets : l'un à 3.87 d'intensité 2H et l'autre à 5.72 ppm d'intensité 1H, dus respectivement aux protons méthyléniques de la forme **7** et éthyléniques de l'une des formes **8a** ou **8b**.

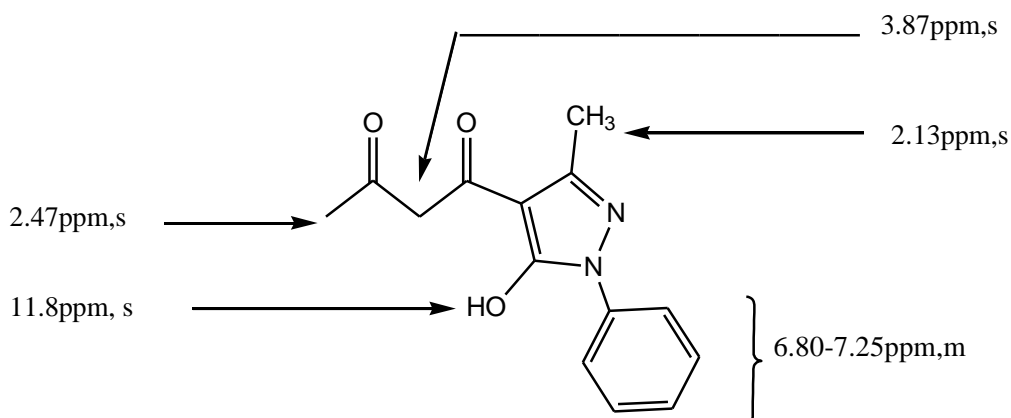


Figure III-5 : RMN  $^1\text{H}$  du composé **8** sous sa forme di cétonique

Nous reportons dans le tableau III-2-3 les résultats spectroscopiques de RMN  $^1\text{H}$  à 300MHz dans  $\text{CDCl}_3$  du composé **8** et ses deux formes tautomères **8a** et **8b**

**Tableau III-2-3** : Caractéristiques spectrales RMN  $^1\text{H}$  du dérivé **8**

Composé	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) :
<b>8</b>	2.13 (s, $\text{CH}_3$ ), 2.47 (s, $\text{CH}_3$ ), 3.87 (s, $\text{CH}_2$ ), 6.80–7.25 (m, H-arom), 11.8 (s, OH)
<b>8a</b> ou <b>8b</b>	2.35 (s, $\text{CH}_3$ ), 2.47 (s, $\text{CH}_3$ ), 5.72 (s, CH), , 6.80–7.25 (m, H-arom), 14.8 (s, OH)

**b. Caractérisation par RMN  $^{13}\text{C}$  :**

La RMN  $^{13}\text{C}$ , met en évidence les signaux attribués aux carbones méthyléniques et éthyléniques de la forme **8** et ses deux tautomères **8a** et **8b**, respectivement à 56 et à 98 ppm.

Sur la base des données RMN  $^{13}\text{C}$ , nous résumons les déplacements chimiques des carbones comme suit :

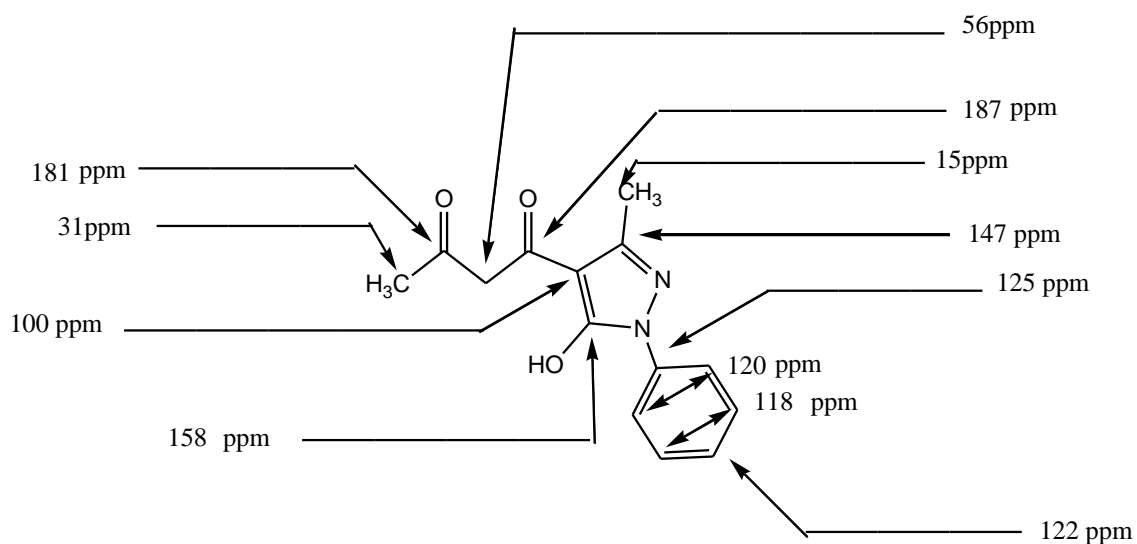


Figure III-6 : RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **8** sous sa forme di cétonique

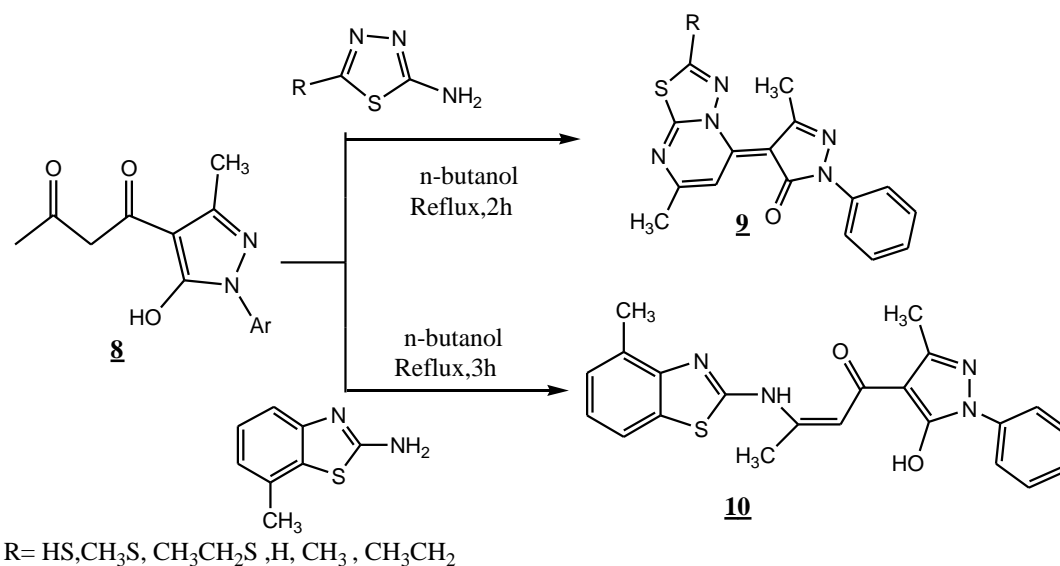
**Tableau III-2-4:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 300 MHz,  $\delta$  (ppm) dans le  $\text{CDCl}_3$  du dérivé **8**

Dérivé	<b>8</b>	<b>8a ou 8b</b>
HO- <u>C</u> =	158	160
= <u>C</u> -	100	107
-N= <u>C</u> -CH <sub>3</sub>	147	151
-N=C- <u>C</u> H <sub>3</sub>	15	15
=C- <u>C</u> O-	187	186
- <u>C</u> H <sub>2</sub> -	56	-
- <u>C</u> H-	-	98
- <u>C</u> O-CH <sub>3</sub>	181	189
-CO- <u>C</u> H <sub>3</sub>	31	23
Arom	118, 120, 122, 125,	118, 120, 122, 125.

### III-2-3 Synthèse du composé **9** et du composé **10**

Dans le but de valoriser la  $\beta$ -diacétoacétylpyrazolone **8**, nous avons pensé à introduire un noyau pyrimidine et un noyau thiazole par rapport aux différents groupements fonctionnels présents dans **8**, ce qui nous permet d'obtenir une structure condensée porteuse d'activité biologique potentielle. Pour cela, nous avons expérimenté la réactivité de ce dernier vis-à-vis des 2-amino-1,3,4-thiadiazole substitués et du 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole.

A cet effet, un mélange équimolaire du composé **8** et du 2-amino-1,3,4-thiadiazole substitué, puis du 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole est porté à reflux dans le n-butanol, pour obtenir respectivement les composés **9 a-f** et **10**.

Schéma III-7 : Synthèse de composés **9** et **10**

Le tableau ci-après présente les résultats obtenus dans la synthèse des composés **9** et **10**.

**Tableau III-2-5 :** Propriétés physico-chimiques des dérivés **9** et **10**

Composés	R	Rdt (%)	Aspect	PF (°C)
<b>9a</b>	HS-	50	Poudre jaune	212-213
<b>9b</b>	CH <sub>3</sub> S-	65	Poudre jaune	235-235
<b>9c</b>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> S-	70	Poudre jaune	238-240
<b>9d</b>	H	55	Poudre jaune	205-208
<b>9e</b>	CH <sub>3</sub> -	60	Poudre jaune	220-222
<b>9f</b>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -	68	Poudre jaune	227-228
<b>10</b>	-	70	Poudre orange	201-202

III-2-3-1 Caractérisation des composés **9** :

Le composé **9** est caractérisé par RMN du proton, du carbone 13, RX

a. Caractérisation par RMN  $^1\text{H}$  :

Nous remarquons sur les spectres RMN  $^1\text{H}$ , pour tous les dérivés **9** la disparition de deux singulets observés à 3.87 et 5.72 ppm sur la structure **8** et **8a**, **8b** correspondant respectivement aux protons méthylénique et éthylénique des formes tautomères, l'apparition d'un singulet à 8.48 ppm, attribuable au proton pyrimidinique.

La figure suivante représente la répartition des signaux dans le spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **9c** donné à titre représentatif, où nous remarquons en particulier l'apparition de quadruplet à 3.35 ppm et triplet à 1.47 ppm attribuables au fragment  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-S-}$

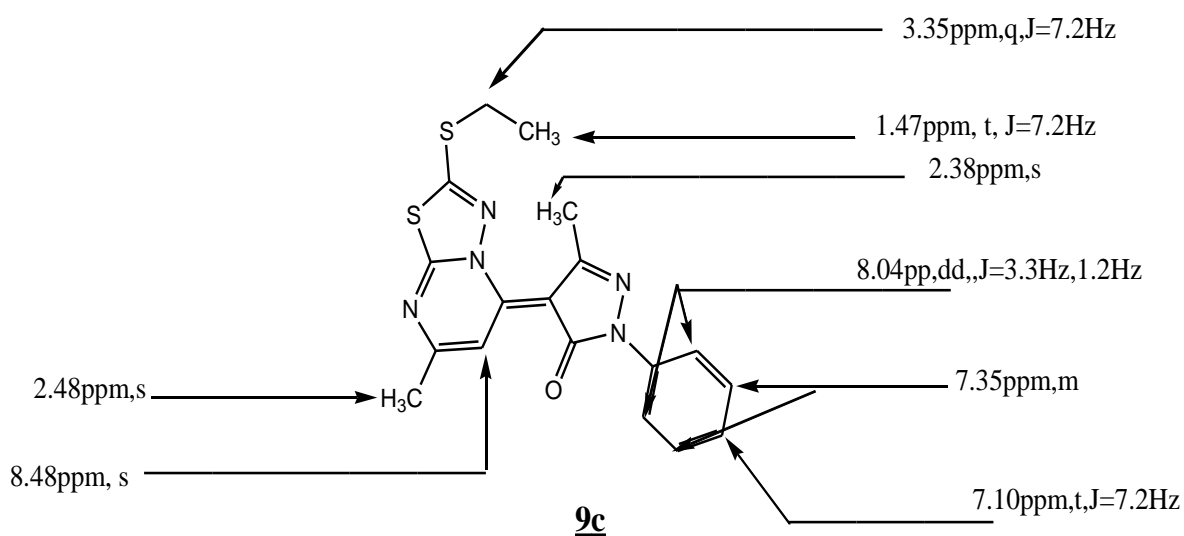
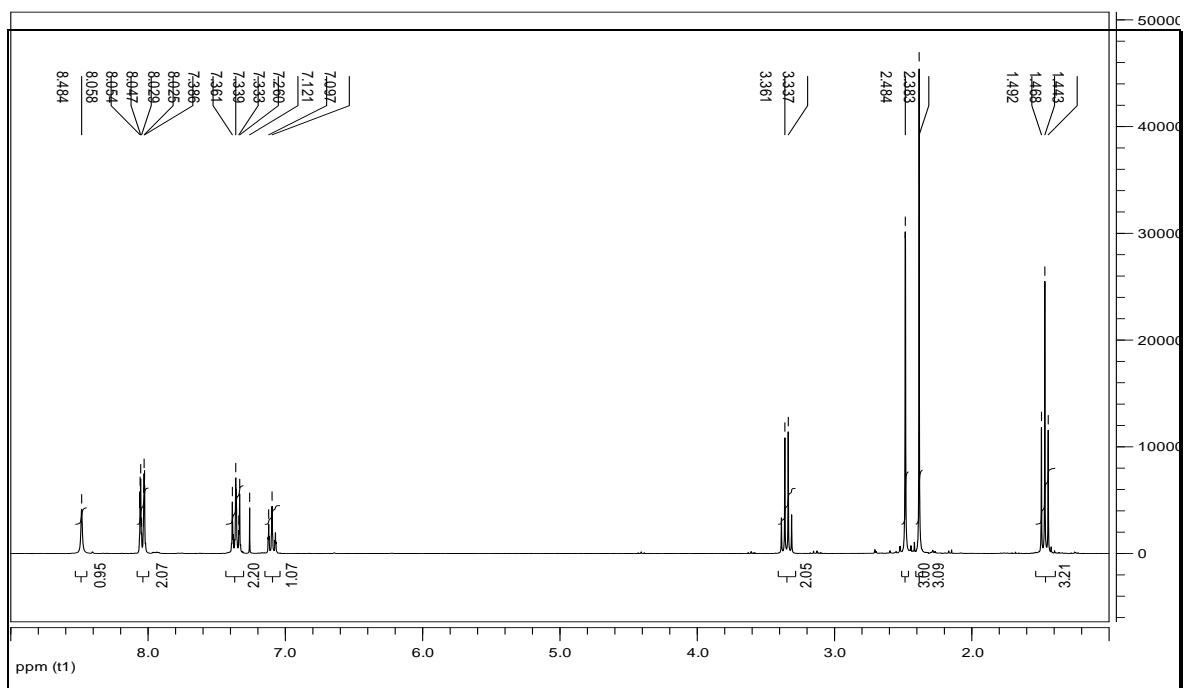


Figure III-7 : Dérivé **9c** RMN  $^1\text{H}$





Derivé9c RMN  $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 5 (ppm):

**Tableau III-2-6:** Caractéristiques spectrales RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  (ppm) du dérivé **9**

Composé	R	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) $\delta$ (ppm):
<b>9a</b>	HS-	7,28 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 2.52 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ), 2.75 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 7.46 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7,25 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.56 (dd, 2H, $J = 3,1$ Hz, 1,6 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ).
<b>9b</b>	$\text{CH}_3\text{S}$ -	8,40 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 7.15 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.40 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.10 (dd, 2H, $J = 3,4$ Hz, 1,7 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 2.35 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ), 2.64 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 2.76 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{S}$ ),
<b>9c</b>	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S}$ -	8,48 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 8,04 (dd, 2H, $J = 3,3$ Hz, 1,2 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7,35 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7,10 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 3,35 (q, 2H, $J = 7,2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-S}$ ), 2,48 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 2,38 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ); 1,47 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-S}$ )
<b>9d</b>	H	2.54 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ), 2.20 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 8.15 (s, 1H, $\text{H}_{\text{thiaz}}$ ), 8.02 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 7.53 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.80 (dd, 2H, $J = 4,3$ Hz, 1,2 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.05 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ )
<b>9e</b>	$\text{CH}_3$ -	2.41 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ), 2.53 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 2.17 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{thiaz}}$ ), 7.99 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 7.30 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.55 (dd, 2H, $J = 3,1$ Hz, 1,5 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 8.10 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ )
<b>9f</b>	$\text{CH}_3\text{CH}_2$ -	2.45 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyr}}$ ), 3.00 (s, 3H, $\text{CH}_{3\text{pyri}}$ ), 1.46 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 3.56 (m, 2H, $J = 7,2$ et 5 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 7.82 (s, 1H, $\text{H}_{\text{pyr}}$ ), 8.01 (t, 1H, $J = 6,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.67 (dd, 2H, $J = 3,7$ Hz, 0,9 Hz, $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.50 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom}}$ )

### b. Caractérisation par RMN $^{13}\text{C}$ :

L'étude en résonance magnétique nucléaire du carbone 13 montre par la similitude des signaux, qui confirme la proposition de la structure **9c** présentée à titre indicatif.

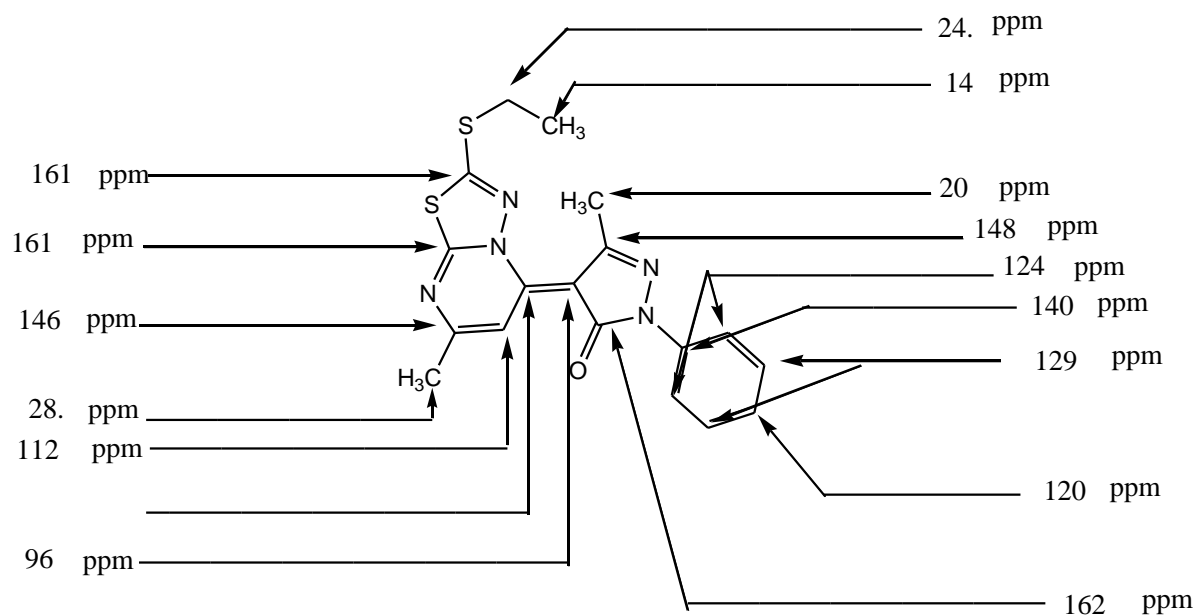
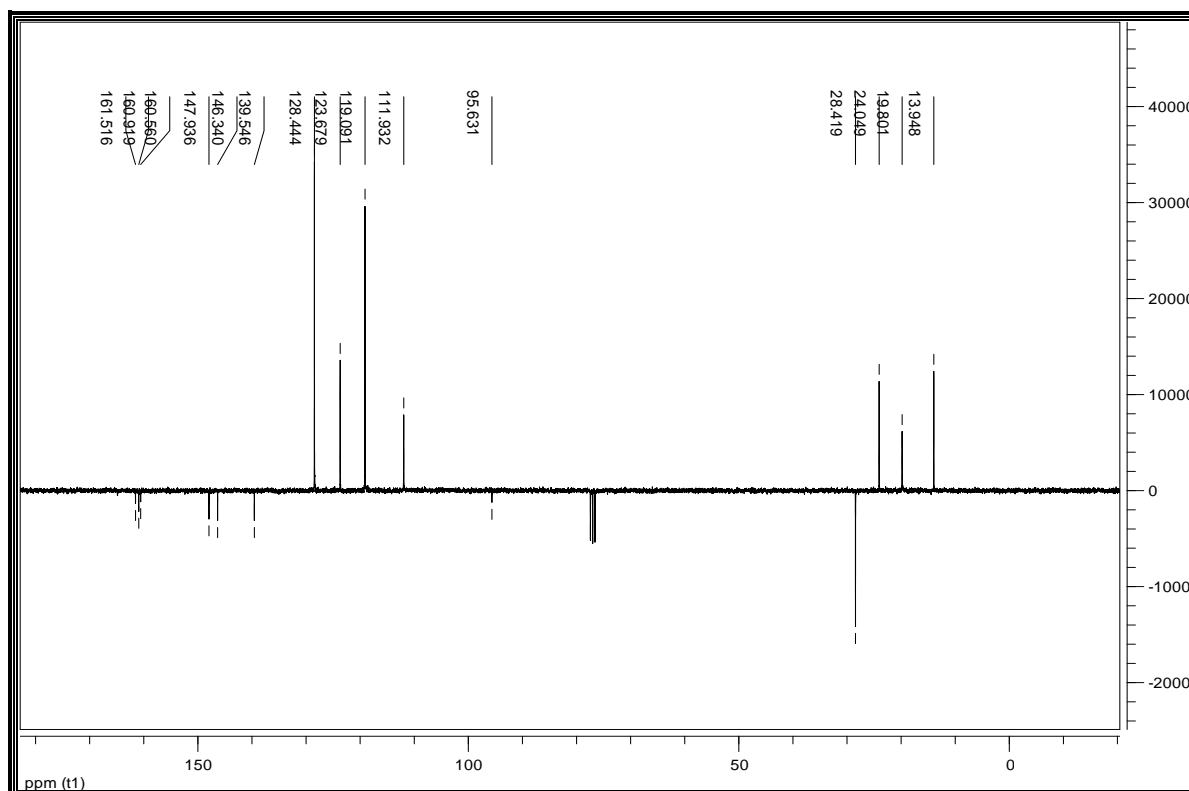


Figure III-8 : Dérivé **9c** RMN  $^{13}\text{C}$



Dérivé **9c** RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz) 5 (ppm):

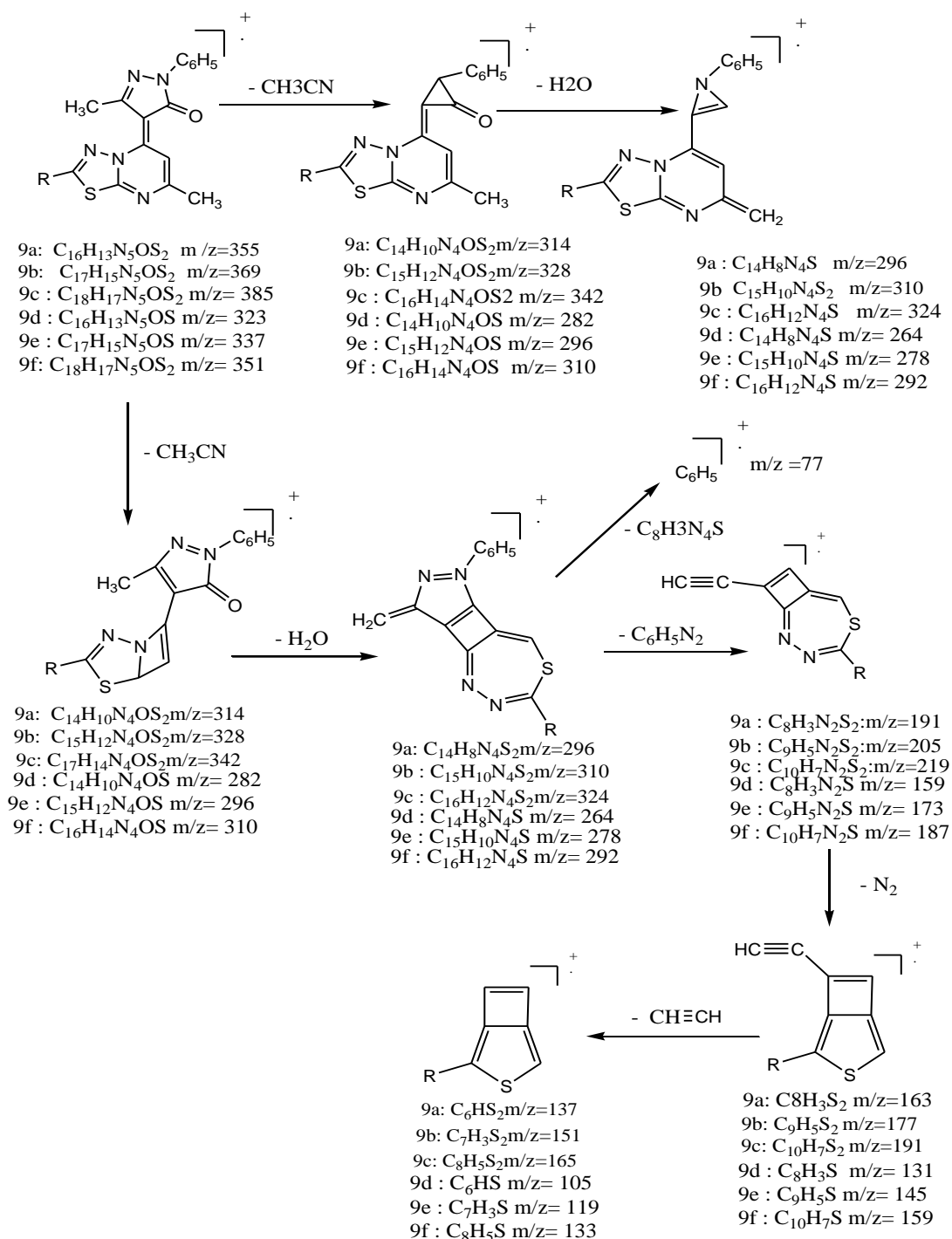
**Tableau III-2-7:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz,  $\delta$  (ppm) dans le  $\text{DCl}_3$  des dérivés **9**

<b>Dérivé</b> <b>attribution</b>	<b>9a</b>	<b>9b</b>	<b>9c</b>	<b>9d</b>	<b>9e</b>	<b>9f</b>
<b><u>CH</u>3-C-Npyridine</b>	24	19	28	24	22	21
<b>N=<u>C</u>-CH3pyri</b>	152	157	146	151	154	151
<b>-N=<u>C</u>-S-</b>	162	161	161	162	163	166
<b>-N=<u>C</u>-Sthiazol</b>	160	162	161	-	166	161
<b>S-<u>CH</u>=Nthiazol</b>	-	-	-	128	-	-
<b>CH3- thiazol</b>	-	24	-	-	-	
<b>-<u>CH</u>2-CH3</b>	-	-	24	-	-	26
<b>CH2-<u>CH</u>3</b>	-	-	14	-	-	25
<b>CH-<u>C</u>=C</b>						
<b>-<u>CH</u>=C</b>	112	111	112	114	117	115
<b>C=<u>C</u>-CO</b>	95	93	96	97	97	95
<b>C-<u>CO</u>-N</b>	171	165	162	169	167	166
<b>N=<u>C</u>-CH3pyrazol</b>	148	147	148	147	147	148
<b><u>CH</u>3-C=Npyrazol</b>	18	15	20	17	16	19
<b><u>C</u>Arom</b>	121. 124 128 140	121. 124 128 140	121. 124 128 140	121. 124 128 140	121. 124 128 140	121. 124 128 140

## c- Spectrométrie de masse

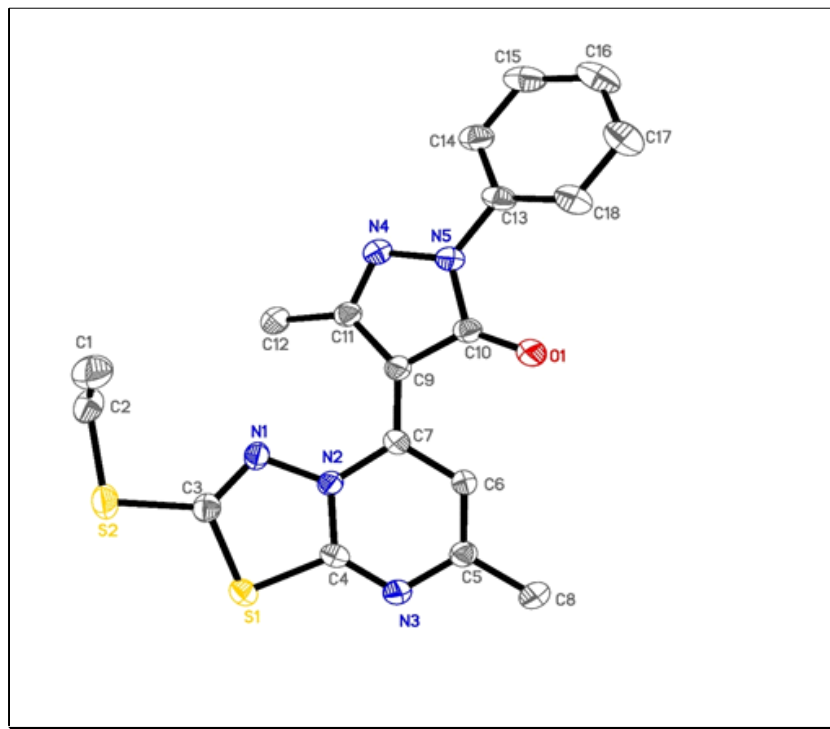
Compte tenu que la structure **9** est formée de trois cycles condensés (pyrazolone-pyrimidine-thiadiazolone), les possibilités de fragmentation sont nombreuses.

Le schéma ci-après présente les diverses voies de fragmentation avec l'élimination d'une molécule d'acétonitrile suivie d'une déshydratation dans la seconde étape pour chaque voie.

Schéma III- 8 : Spectrométrie de masse des composés **9**

**d- Analyse cristallographique aux rayons-X**

L'analyse cristallographique aux rayons-X des dérivés **9**, montre clairement par rapport au composé **9c** la structure proposée.



Diffractions aux rayons X des composés **9**

### III-2-3-2 Caractérisation du composé **10**:

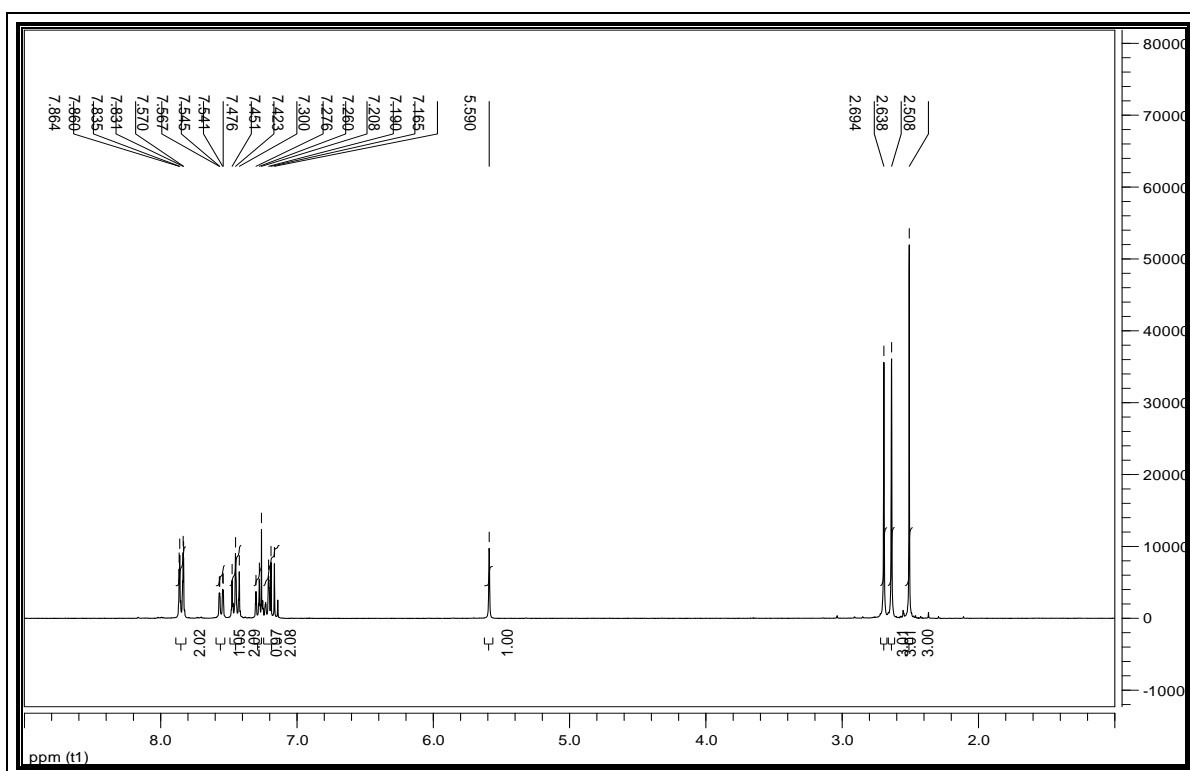
Le composé **10** est caractérisé par RMN du proton et du carbone 13.

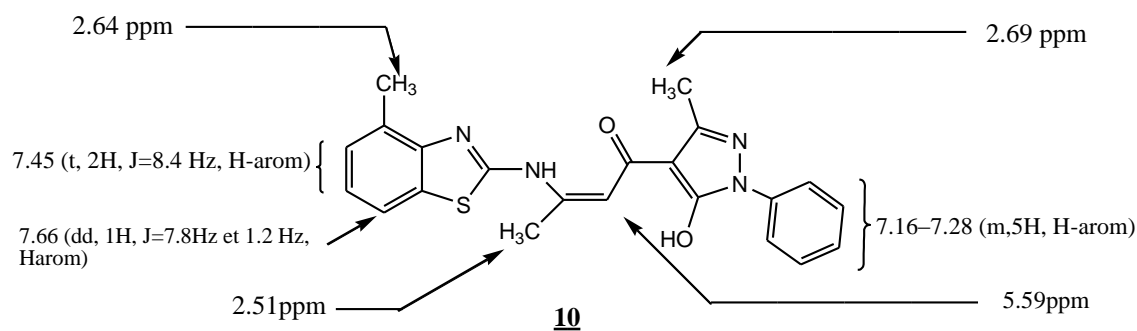
#### a. Caractérisation par RMN $^1\text{H}$ :

Nous remarquons sur les spectres RMN  $^1\text{H}$ , pour le dérivé **10** la disparition de deux singulets observés à 3.87 et 5.72 ppm sur la structure **8** et **8a**, **8b** correspondant respectivement aux protons méthylénique et éthylénique des formes tautomères. L'apparition d'un singulet à 5.59 ppm, correspond à un groupement CH.

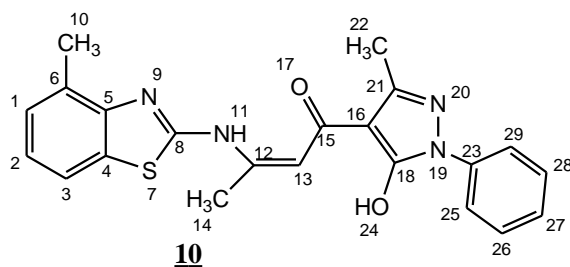
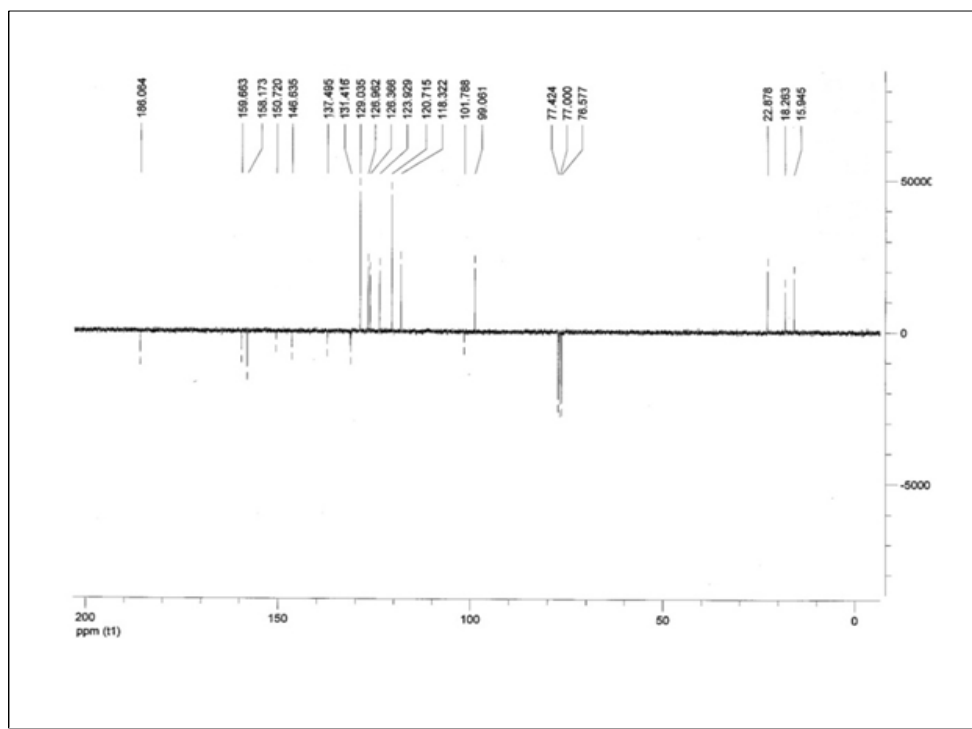
**Tableau III-2-8:** Caractéristiques spectrales RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 5 (ppm) du dérivé **10**

Composé	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 5 (ppm):
<b>10</b>	5.59 (s, 1H, C=CH), 2.69 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.64 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 13.16 (s, 1H, OH), 7.85 (dd, 2H, J=8.7Hz, 1.2 Hz, H-arom), 7.66 (dd, 1H, J=7.8 Hz and 1.2 Hz, H-arom), 7.45 (t, 2H, J=8.4 Hz, H-arom), 7.16–7.28 (m, 3H, H-arom),

**Dérivé10 : RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 5 (ppm):**

Figure III-9 : Dérivé **10** RMN  $^1\text{H}$ **b-Characterisation par RMN  $^{13}\text{C}$  :**

La caractérisation par RMN  $^{13}\text{C}$  rapporte essentiellement la présence de signaux attribuables au carbone quaternaire C12 et au carbone éthylénique C13 à respectivement 102 et 99 ppm

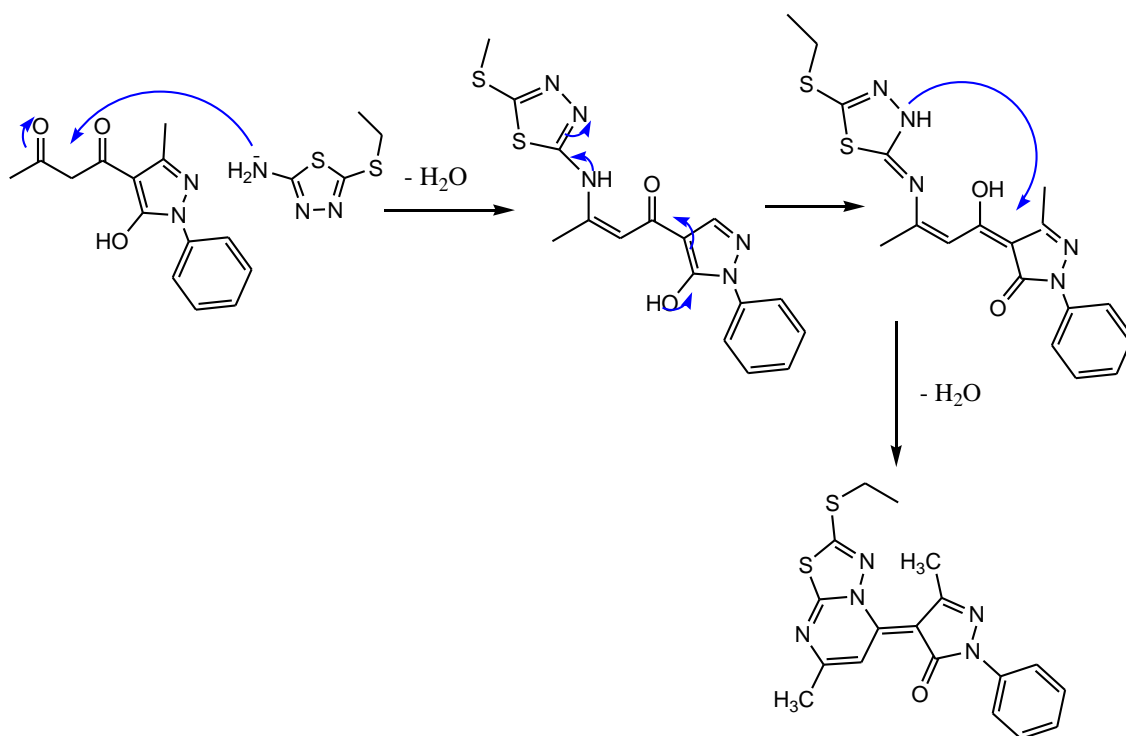
Figure III-10 : Composé **10**Dérivé10 : RMN  $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz) 5 (ppm)



**Tableau III-2-9:** Caractéristiques spectrales RMN  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz,  $\delta$  (ppm) dans le  $\text{CDCl}_3$  du dérivé **10**

Dérivé	<b>10</b>
Attribution	
C4	151
C5	158
C8	160
C10	16
<b>C12</b>	<b>102</b>
<b>C13</b>	<b>99</b>
C14	23
C15	186
C16	77
C18	77
C21	147
C22	18
$\text{C}_{\text{Arom}}$ ( 1,2,3,6,23,25,26,27,28,29)	118,121, 124, 126, 127, 129, 134,138.

## III-2-3- 3 Mécanisme réactionnel

Mécanisme réactionnel proposé pour les composés **9**

Le mécanisme proposé pour la formation de la structure **9** s'explique, dans une première étape, par une réaction d'addition nucléophile de l'amine primaire du 2-amino-5-éthylsulfanyl-1,3,4-thiadiazole sur le carbonyle le plus électrophile du dérivé **8** engendrant l'élimination d'une molécule d'eau. L'intermédiaire ainsi formé subit une hétérocyclisation par l'attaque nucléophile du groupement NH sur le carbone de la fonction énol, dans une seconde étape, avec l'élimination d'une seconde molécule de H<sub>2</sub>O. L'analyse spectrale par RMN du proton, du carbone 13, RX confirme cette voie de synthèse.

En revanche, le composé **10** n'a subi que la première étape à savoir l'addition nucléophile de l'amine primaire du 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole sur le carbonyle le plus électrophile du dérivé **8** et l'élimination d'une seule molécule d'eau pour former une structure finale porteuse d'une fonction énamine, cela est dû probablement à la taille du 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole défavorable à la cyclisation pour des raisons de réactivité nucléophile différente.

## Conclusion

Dans cette partie de thèse, nous nous sommes intéressés à l'acide déhydroacétique, produit commercial peu coûteux, présentant un nombre de sites actifs et présent dans les laboratoires de synthèses depuis plus d'un siècle ; cela ne nous a pas empêché d'accéder à de nouvelles structures hétérocycliques de type pyrazole en présence du thiosemicarbazide avec des rendements convenables de l'ordre de 37%. Ces rendements peuvent être améliorés, dans une étude ultérieure, en faisant varier les conditions stœchiométriques.

L'utilisation des aminothiadiazoles substitués sur des dérivés de l'acide déhydroacétique a permis l'accès à une structure condensée thiazolpyrimidinepyrazole par l'introduction du 2-amino-1,3,4-thiadiazole substitué avec un rendement de 70%. En revanche l'utilisation du amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole n'a pas abouti aux résultats attendus, mais, il ouvre une voie pour rechercher les conditions de cyclisation.

## Partie expérimentale

### . Produits chimiques utilisés :

Tous les produits chimiques commerciaux et les solvants organiques ont été employés sans aucune purification ni distillation.

Le produit de départ, l'acide déhydroacétique est un réactif solide poudreux cristallin, incolore, inodore de formule brute  $C_8H_8O_4$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*. Sa masse molaire vaut 168,14g/mole et sa densité est de 0,719 g/ml à 20 °C. Le point de fusion est égal à 107-108°C et la solubilité dans l'eau 1,00 g/l à 20 °C

Le produit de départ, le N,N-diméthylformamidediméthylacétal est un réactif liquide pur à 95%, de formule brute  $C_3H_7NO_2$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*. Sa masse molaire vaut 73.09g/mole et sa densité est de 0,9487 g/mL à 20 °C. Le point d'ébullition est égal à 152,5 °C, il est miscible dans l'eau

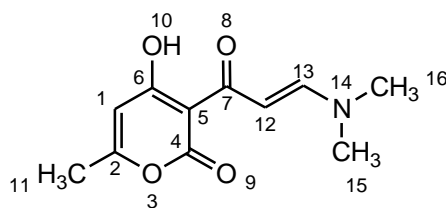
Le produit de départ, la phénylhydrazine est un réactif liquide pur à 97%, de formule brute  $C_6H_8N_2$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*. Sa masse molaire vaut 108,14g/mole et sa densité est de 1,0978 g/mL à 20 °C. Le point d'ébullition est égal à 152,5 °C. La solubilité dans l'eau 2 g/L à 20 °C

Le produit de départ, le 2-amino-5-éthylsulfanyl-1,3,4-thiadiazole est une poudre jaunâtre cristalline pure à 99%, de formule brute  $C_4H_7N_3S_2$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*.. Sa masse molaire vaut 161.25g/mole .

Le produit de départ, le 2-amino-4-méthyl-1,3- benzothiazole est une poudre cristalline blanche, pure à 97%, de formule brute  $C_8H_8N_2S$ . Il est commercialisé par le laboratoire *Merck*. Sa masse molaire vaut 164.23g/mole.

Les rendements de la réaction sont calculés à partir des produits bruts. Certains produits ont été recristallisés juste avant de procéder à leur analyse.

**3-[(Diméthylamino)prop-2-énoyl]-4-hydroxy-6-méthylpyran-2-one 5**



Rdt(%) : 65%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) = 170-172 °C  
 M(C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>)= 223

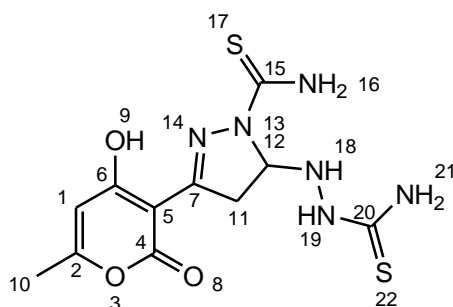
1,68g (10<sup>-2</sup>) mole de l'acide déhydroacétique, 1,19g (10<sup>-2</sup>) mole de N,N-diméthylformamide-diméthylacétal (DMF-DMA) dans 30 mL de dichlorométhane en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique glacial (3 mL, 0.05 mole), sont chauffés à reflux pendant 06 h. Après évaporation du solvant, l'huile obtenue précipite dans l'éthanol pour donner le composé 5 avec un rendement de 65%, et P.F=170-172 °C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200MHz): 2.17(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.04(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.23(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.78 (s, 1H, CH=C), 6.64(d, 1H, J=7.96, CH=CH<sub>a</sub>), 8.04(d, 1H, J=8,10, CH<sub>b</sub>=CH),

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz): 92(C<sub>1</sub>), 163(C<sub>2</sub>), 186(C<sub>4</sub>), 96(C<sub>5</sub>), 167(C<sub>6</sub>), 185(C<sub>7</sub>), 19(C<sub>11</sub>), 105(C<sub>12</sub>), 156(C<sub>13</sub>), 38(C<sub>15</sub>), 46(C<sub>16</sub>).

S.M (IE, 70ev) : M<sup>+</sup>= 224.

**3-(2-Carbamothioylhydrazino)-5-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-pyran-3-yl)-3,4-dihydropyrazol-2-carbothioamide 6**



Rdt(%) : 37%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) =247-248 °C  
 M(C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>)= 342.06

Une solution équimolaire du composé 5 (2.23g, 0.01 mole) et le thiosemicarbazide (0.91 g, 0.01 mole) est portée à reflux pendant 3h dans l'éthanol. Après refroidissement le solvant est évaporé à sec sous pression réduite, l'huile obtenue est traitée dans l'éthanol pour donner un précipité jaune qui est filtré, et obtenu avec un rendement de

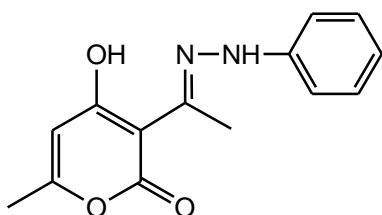
37% ; PF= 247–248°C; IR (cm<sup>-1</sup>, neat): 3356, 3296, 3242, 3163, 1724, 1703, 1602, 1532, 1489.

RMN<sup>1</sup>H (d<sub>6</sub>-DMSO, 300 MHz) δ (ppm) = 11.56 (large. s, 1H, OH), 8.78 (s, 1H, NH), 8.19 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.85 (large . s, 1H, NH), 7.59 (large . s, 1H, NH), 6.31 (s, 1H, NH), 5.89 (s, 1H, CH-C(OH)), 5.57 (dd, 1H, J = 6.9 Hz, 3.3 Hz, CH), 3.60 (dd, 1H, J = 19.8 Hz, 10.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.26 (dd, 1H, J = 19.5 Hz and 3.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)

RMN<sup>13</sup>C (d<sub>6</sub>-DMSO, 75 MHz) δ (ppm) = 19.5(C10), 39.7(C11), 182.5(C20), 174.9(C6), 170.2(C7), 165.2(C4), 161.2(C15), 155.7(C2), 100.6(C1), 93.1(C5), 72.4(C12);

MS/DCI (NH<sub>3</sub>), m/z 343 (MH<sup>+</sup>).

**4-hydroxy-6-méthyl-3-[(1E)-N-phényléthanéhydrazonoyle]-2H-pyran-2-one. 7**



Rdt(%) : 85%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 200-200 °C  
M(C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) = 258

Dans un ballon est introduit 1.68g (0.01mole) d'acide déhydroacétique additionné à 30 mL d'éthanol puis 1.08g (0.01mole) de phénylhydrazine sous agitation le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 1 heure. Après refroidissement de la solution, un précipité jaune est récupéré par filtration sous vide. Recristallisation dans l'éthanol.

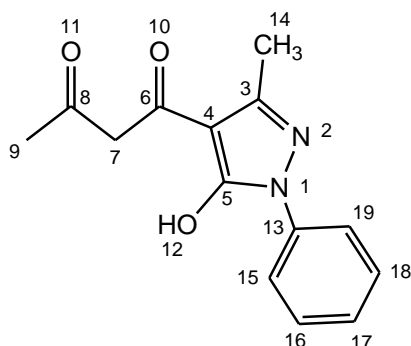
Rendement = 85%, P.F= 200-200 °C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) : 2.60(s, CH<sub>3</sub>pyr), 2.60 (s, CH<sub>3</sub>), 5.60(CH, s, CH=C), 6.90-7.45(m, 5H, arom).

IR (KBr): νC=O = 1700cm<sup>-1</sup>, νN-H = 3200cm<sup>-1</sup>

S.M = [M<sup>+</sup>] = 258

*1-(5-hydroxy-3-méthyl-1-phényl-1H-pyrazol-4-yl) butan-1,3-dione* **8**, et **8b**, **8c**



Rdt(%) : 73%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) = 101-101 °C  
 M(C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)= 258

Une solution de 50 ml d'acide acétique contenant 1.29 g (0.005mole) de **7** est chauffée à reflux et maintenu sous agitation magnétique pendant 3 heures. Après évaporation du solvant et recristallisation dans l'acétonitrile, une poudre jaune est recueillie.

Rendement = 73%, P.F= 101 °C.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) : 2.13 (s, CH<sub>3</sub>), 2.47 (s, CH<sub>3</sub>), 3.87 (s, CH<sub>2</sub>), 6.80–7.25 (m, H-arom), 11.8(s,OH) , **8a** ou **8b** : 2.35 (s, CH<sub>3</sub>), 2.47 (s, CH<sub>3</sub>), 5.72 (s, CH), , 6.80–7.25 (m, H-arom), 14.8(s,OH)

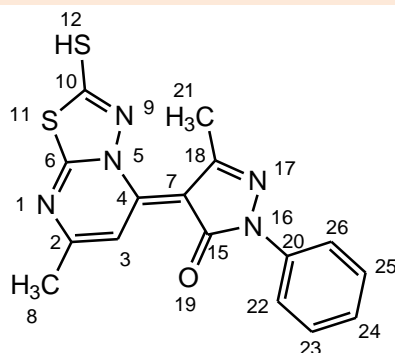
RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) **7** : 158(C<sub>8</sub>), 100(C<sub>4</sub>), 146(C<sub>3</sub>), 187(C<sub>6</sub>), 15.04(C<sub>3</sub>), 56(C<sub>7</sub>), 181(C<sub>8</sub>), 30.58(C<sub>9</sub>), 118, 120, 122, 125(Carom).

**8a** ou **8b** : 160(C<sub>8</sub>), 107 (C<sub>4</sub>), 151(C<sub>3</sub>), 188(C<sub>6</sub>), 15.44(C<sub>3</sub>), 98(C<sub>7</sub>), 186(C<sub>8</sub>), 22,59 (C<sub>9</sub>).

IR (KBr): νC=O = 1620cm<sup>-1</sup>, 1720cm<sup>-1</sup>, νOH = 3400cm<sup>-1</sup>.

S.M = [M<sup>+</sup>] = 258.

*(4E)-4-(2-méthyl-5H-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ylidène)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one* **9a**



Rdt(%) : 50%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) = 212-213 °C  
 M(C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>)= 355

Le composé **9a** est obtenu par la mise à reflux pendant 2h d'une solution équimolaire du 2-amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazole (1.32 g, 0.01 mole) et du diacétoacétylpyrazolone **8** (2.58 g, 0.01 mole) dans (40 mL) de n-butanol. La solution est ensuite réduite à 15 ml le précipité est filtré, recristallisé dans l'éthanol pour donner un solide jaune.

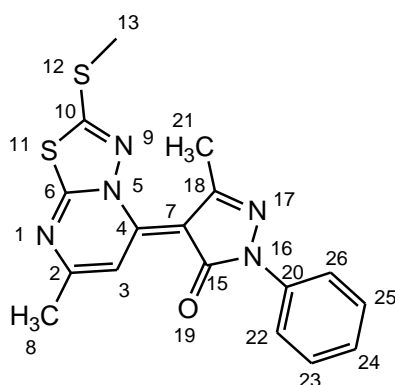
Rdt= 50%; PF= 212–213 °C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm)=7,28 (s, 1H, H-pyr), 2.52(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyr), 2.75(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 7.46(t, 1H, J = 7,0 Hz, H<sub>arom</sub>), 7,25 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.56 (dd, 2H, J = 3,1 Hz, 1,6 Hz, H<sub>arom</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz) :162(C<sub>6</sub>), 152(C<sub>2</sub>), 112(C<sub>3</sub>), (C<sub>4</sub>), 160(C<sub>10</sub>), 24(C<sub>8</sub>), 95(C<sub>7</sub>), 171(C<sub>15</sub>), 148(C<sub>18</sub>), 18(C<sub>21</sub>), 113, 123, 130, 134(C<sub>arom</sub>).

S.M (IE, 70ev) : M<sub>+</sub>. = (calculée, trouvée pour C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>): 355.440, 355.448

*(4E)* -5-méthyl-4-[7-méthyl-2-(méthylthio) -5H-[1,3,4]thiadiazolo-[3,2a]pyrimidin-5-ylidène]-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one **9b**.



Rdt(%) :65%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 235-235°C  
M(C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>)= 369

Le composé **9b** est obtenu de la même manière que **9a**, par la mise à reflux pendant 2h d'une solution équimolaire du 2-amino-5-méthylsulfanyl-1,3,4-thiadiazole (1.47 g, 0.01 mole) et du diacétoacétylpyrazolone **8** (2.58 g, 0.01 mole) dans (40 mL) de n-butanol. La solution est ensuite réduite à 15ml, le précipité est filtré, recristallisé dans l'éthanol pour donner un solide jaune.

Rdt= 65%; PF= 235–235 °C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm)= 8,40 (s, 1H, H<sub>pyr</sub>), 7.15(m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.40 (t, 1H, J = 7,4 Hz, H<sub>arom</sub>), 8.10(dd, 2H, J = 3,4 Hz, 1,7 Hz, H<sub>arom</sub>),. 2.35(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyr), 2.64(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 2.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>S),

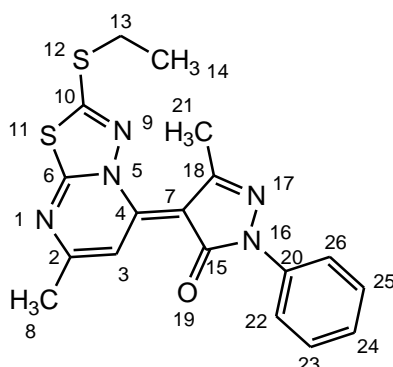
RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz) :162(C<sub>6</sub>), 152(C<sub>2</sub>), 130(C<sub>3</sub>), 111(C<sub>4</sub>), 161(C<sub>10</sub>), 15(C<sub>8</sub>),

95(C<sub>7</sub>), 171(C<sub>15</sub>), 148(C<sub>18</sub>), 18(C<sub>21</sub>), ,121, 124, 128, 140(C<sub>arom</sub>).

S.M (IE, 70ev) : M<sub>+</sub>. = (calculée, trouvée pour C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>): 369.466, 369.470



(4E)-4-(2-éthylsulfanyl-7-méthyl-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a] pyrimidin-5-ylidène)-5-méthyl-2-phényl-pyrazol-3-one **9c**



Rdt(%) : 70%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 238-240 °C  
M(C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>)= 383

De même le composé **9c** est obtenu par la mise à reflux pendant 2h d'une solution équimolaire du 2-amino-5-éthylsulfanyl-1,3,4-thiadiazole (1.61 g, 0.01 mole) et du diacetoacétylpyrazolone **8** (2.58 g, 0.01 mole) dans (40 mL) de n-butanol. La solution est ensuite réduite à 15ml le précipité est filtré, recristallisé dans l'éthanol pour donner un solide jaune.

Rdt= 70%; PF= 238–240 °C;

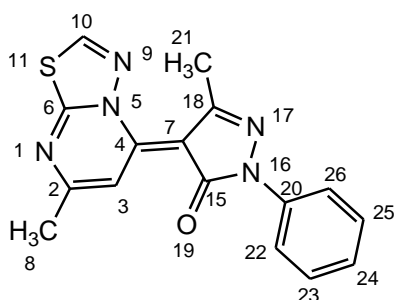
IR (cm<sup>-1</sup>, neat): 2988, 2937, 1638, 1584,1507, 1489, 1467.

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm)= 8,48 (s, 1H, H<sub>pyr</sub>), 8,04 (dd, 2H, J = 3,3 Hz, 1,2 Hz, H<sub>arom</sub>), 7,35 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7,10 (t, 1H, J = 7,2 Hz, H<sub>arom</sub>), 3,35 (q, 2H, J = 7,2 Hz, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-S), 2,48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 2,38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>pyr); 1,47 (t, 3H, J = 7,2 Hz, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-S)

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 161.5(C<sub>15</sub>), 160.9(C<sub>10</sub>),160.5(C<sub>6</sub>), 147.9(C<sub>18</sub>), 146.3(C<sub>2</sub>), 111.9(C<sub>3</sub>), 85.6(C<sub>4</sub>),28.4(C<sub>8</sub>), 24.0(C<sub>13</sub>), 19.8(C<sub>21</sub>), 13.9(C<sub>14</sub>), 139.5, 128.4, 123.6, 119.1, (C<sub>arom</sub>)

MS/EI, m/z 383 (M<sup>+</sup>).

(4E)-5-méthyl-4-(7-méthyl-5H-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ylidène)-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one **9d**



Rdt(%) :55%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 205-208°C  
M(C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>OS)= 323

1.01g ( $10^{-2}$  mole) de 2-amino-1,3,4-thiadiazole et 2.58g ( $10^{-2}$  mole) de diacétoacétylpyrazole **8** sont portés à reflux et sous agitation dans 40ml de n-butanol. Après deux heures de chauffage, le solvant de la réaction est réduit de moitié. Le produit est filtré, puis recristallisé dans l'éthanol.

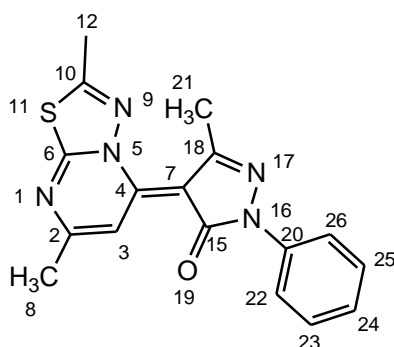
Rdt= 55%; PF= 205–208 °C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$  (ppm)= 2.54(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyr), 2.20(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 8.15(s, 1H, H<sub>thiaz</sub>), 8.02(s, 1H, H<sub>pyr</sub>), 7.53 (t, 1H, J = 7,5 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.80(dd, 2H, J = 4,3 Hz, 1,2 Hz, H<sub>arom</sub>), 8.05(m, 2H, H<sub>arom</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz) : 162(C<sub>6</sub>), 151(C<sub>2</sub>), 114(C<sub>3</sub>), ... (C<sub>4</sub>), 128(C<sub>10</sub>), 24(C<sub>8</sub>), 97(C<sub>7</sub>), 169(C<sub>15</sub>), 147(C<sub>18</sub>), 17(C<sub>21</sub>), 121, 124, 128, 140(C<sub>arom</sub>).

S.M (IE, 70ev): M<sup>+</sup>= (calculée, trouvée pour C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>OS) : 323.374, 323.382

*(4E)-4-(2,7-diméthyl-5H-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ylidène)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one. 9e*



Rdt(%) : 60%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 220-222°C  
M(C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OS) = 337

De même, **9e** est obtenu à partir de 1.31g (0.01mole) du 2-amino-5-méthyl-1,3,4-thiadiazole.

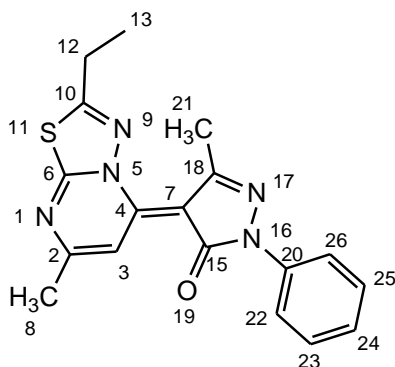
Rdt= 60%; PF= 220–222 °C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$  (ppm)= 2.41(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyr), 2.53(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 2.17(s, 3H, CH<sub>3</sub>thiaz), 7.99(s, 1H, H<sub>pyr</sub>), 7.30(t, 1H, J = 6,9 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.55(dd, 2H, J = 3,1 Hz, 1,5 Hz, H<sub>arom</sub>), 8.10(m, 2H, H<sub>arom</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz) : 163(C<sub>6</sub>), 154(C<sub>2</sub>), 117(C<sub>3</sub>), 127(C<sub>10</sub>), 22(C<sub>8</sub>), 96(C<sub>7</sub>), 167(C<sub>15</sub>), 147(C<sub>18</sub>), 16(C<sub>21</sub>), 19 (C<sub>12</sub>), 112, 120, 122, 137(C<sub>arom</sub>).

S.M (IE, 70ev) : M<sup>+</sup>. = (calculée, trouvée pour C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OS) : 337.400, 337.414

(4E)-4-(2-éthyl-7-méthyl-5H-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ylidène)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one **9f**



Rdt(%) : 68%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) 227-228°C  
M(C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>OS)= 351

De même **9f** est obtenu à partir de 1.45 g (0.01mole) de 2-amino-5-éthyl -1,3,4-thiadiazole.

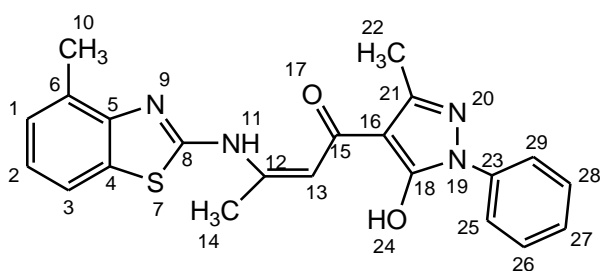
Rdt= 68%; PF= 227–228 °C

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm)= 2.45(s, 3H,CH<sub>3</sub>pyr), 3.00(s, 3H, CH<sub>3</sub>pyri), 1.46(t, 3H, J= 7.2Hz ,CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.56 (m, 2H, J= 7.2 et 5Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 7.82(s, 1H, H<sub>pyr</sub>), 8.01(t, 1H, J = 6,5 Hz, H<sub>arom</sub>),7.67(dd, 2H, J = 3,7 Hz, 0,9 Hz, H<sub>arom</sub>), 7.50(m, 2H, H<sub>arom</sub>)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz) : 163(C<sub>6</sub>), 151(C<sub>2</sub>), 115(C<sub>3</sub>), 128(C<sub>10</sub>), 19(C<sub>8</sub>), 95(C<sub>7</sub>), 166(C<sub>15</sub>), 148(C<sub>18</sub>), 18(C<sub>21</sub>), 26(C<sub>12</sub>), 25(C<sub>13</sub>), 121, 124, 128, 140(C<sub>arom</sub>).

S.M (IE, 70ev) : M<sup>+</sup>= (calculée, trouvée pour C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>OS) : 351.427, 351.433

1-(5-Hydroxy-3-méthyl-1-phényl-pyrazol-4-yl)-3-[(4-méthyl-1,3-benzothiazol-2-yl)amino]but-2-ène-1-one **10**



Rdt(%) : 70%  
Aspect: orange  
PF(°C) = 201-202 °C  
M(C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S)= 404.13

Le composé **10** est obtenu par la mise à reflux d'une solution de 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole (1.64 g, 0.01mole) et de diacétoacétylpyrazolone **8** (2.58 g, 0.01mole) dans le n-butanol (40mL) pendant 3 h.

Après refroidissement, la solution est réduite par évaporation à 20 mL, un précipité orange est obtenu par filtration

Rdt= 70%; PF= 201–202 °C

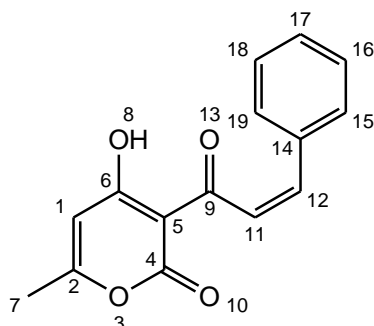
IR (cm<sup>-1</sup>, neat): 2916, 1621, 1594, 1551, 1523, 1496, 1463.

RMN  $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta$  (ppm)=13.16 (s, 1H, OH), 7.85 (dd, 2H, J=8.7Hz, 1.2 Hz, H-arom), 7.66 (dd, 1H, J=7.8Hz and 1.2 Hz, H-arom), 7.45 (t, 2H, J=8.4 Hz, H-arom), 7.16–7.28 (m, 5H, H-arom), 5.59 (s, 1H, C=CH), 2.69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.64 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.51 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

RMN  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz)  $\delta$  (ppm)= 186.1 ( $\text{C}_{15}$ ), 159.7( $\text{C}_8$ ), 158.2( $\text{C}_5$ ), 150.7( $\text{C}_4$ ), 146.6( $\text{C}_{21}$ ), 137.5, 131.6, 131.4, 129.0, 127.0, 126.4, 123.9, 120.7, 118.3, 99.1( $\text{C}_{13}$ ), 101.7 ( $\text{C}_{12}$ ), 22.9( $\text{C}_{14}$ ), 77.5( $\text{C}_{16}$ ), 18.3( $\text{C}_{22}$ ), 77.0( $\text{C}_{18}$ ), 15.9( $\text{C}_{10}$ )

MS/EI, m/z 404 ( $\text{M}^+$ ).

**4-hydroxy-6-méthyl-3-((Z)-3-phénylacryloyl)-2H-pyran-2-one 11a**



Rdt(%) : 63%  
Aspect: solide jaune  
PF( $^{\circ}\text{C}$ ) = 88-89  $^{\circ}\text{C}$   
M( $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ )= 256

Une solution de 1.68g (0.01mole) de DHA, une quantité équimolaire de benzaldéhyde 1.06g (0.01mole) et 0.28g (0.0033mole) de pipéridine dans 30ml de chloroforme sont mises à reflux pendant 4h. Après l'évaporation du solvant, l'huile obtenue précipite à l'éthanol pour donner le composé **11a** avec un rendement de 63% ,

P.F=88-90 $^{\circ}\text{C}$

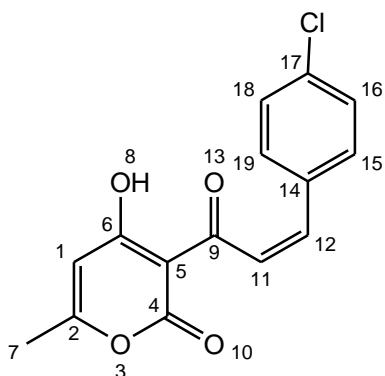
IR ( $\text{cm}^{-1}$ , neat): 3083, 2932, 1720, 1623, 1577, 1517, 1448;

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ (ppm) = 8.29 (d, 1H, J = 15.9 Hz, = CH-C=O), 7.92 (d, 1H, J = 15.6 Hz, = CH- $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.69 (m, 2H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.40–7.42 (m, 3H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.93 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.26 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 192.6, 183.1, 168.1, 145.7, 134.8, 130.9, 129.1, 128.9, 123.5, 102.9, 101.9, 20.6.

MS/DCI ( $\text{NH}_3$ ), m/z 257 ( $\text{MH}^+$ ), 274( $\text{MNH}_4^+$ )

**4-hydroxy-3-((Z)-3-(4-chlorophényl)acryloyl)-6-méthyl-2H-pyran-2-one 11b**



Rdt(%) :84%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) = 148-150 °C  
 M(C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>4</sub>)= 290.5

Une solution de 1.68g (0.01mole) de DHA, une quantité équimolaire de 4-chlorobenzaldéhyde 1.42g (0.01mole) et 0.28 g (0.0033mole) de pipéridine dans 30ml de chloroforme est mise à reflux pendant 2h. Après l'évaporation du solvant, l'huile obtenue précipite à l'éthanol pour donner le composé **11b** avec un rendement de 84% , P.F=148-150°C

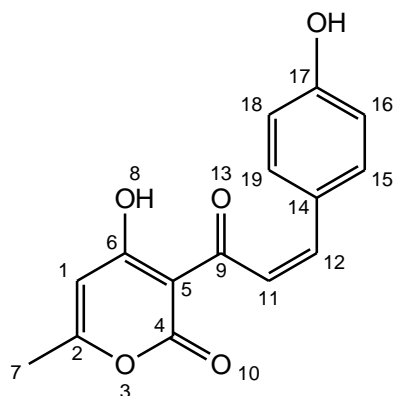
IR (cm<sup>-1</sup>, neat) 3101, 3024,2997, 1722, 1627, 1489.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm) = 8.28 (d, 1H, J = 15.6 Hz, = CH-C=O), 7.89 (d, J= 15.6 Hz, 1H, = CH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.62 (d, 2H, J = 8.4 Hz,C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.39 (d, 2H, J = 8.4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.97 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) =192.6, 183.1, 168.8, 144.6, 137.0, 133.2, 130.3, 129.2,123.6, 102.4, 20.7;

MS/ESI, m/z 291 (MH<sup>+</sup>)

**3-((Z)-3-(4-chlorophényl)acryloyl)-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one 11c**



Rdt(%) :75%  
 Aspect: solide orange  
 PF(°C) = 140-141 °C  
 M(C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>)= 272.5

De même que pour **11a** à partir de 1.20 g (0.01mole) de 4-hydroxybenzaldéhyde, le composé **11c** est obtenu avec un rendement de 75%, PF°=140-141

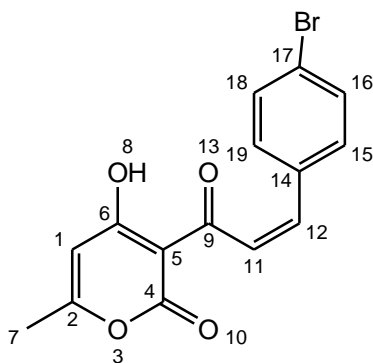
IR (cm<sup>-1</sup>, neat) 3121, 3084, 2997, 1742, 1627, 1489.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm) = 8.28 (d, 1H, J = 16.6 Hz, = CH-C=O), 7.99 (d, J = 16.6 Hz, 1H, = CH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.52 (d, 2H, J = 8.8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.45 (d, 2H, J = 8.8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.97 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 192.5, 182.1, 168.8, 144.6, 135.0, 123.2, 132.1, 129.2, 124.6, 101.7, 21.6;

MS/ESI, m/z 273 (MH<sup>+</sup>)

**3-((Z)-3-(4-bromophényl)acryloyl)-4-hydroxy-6-méthyl-pyran-2-one 11d**



Rdt(%) : 51%  
Aspect: solide jaune  
PF(°C) = 171-172 °C  
M(C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>BrO<sub>4</sub>) = 334

De même que pour **11a** à partir de 1.84g (0.01mole) de 4-bromobenzaldéhyde, le composé **11d** est obtenu avec un rendement de 51%, PF°=171-172 ;

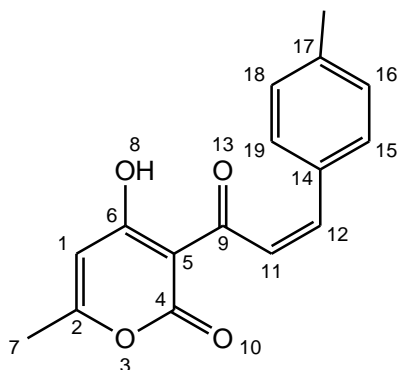
IR (cm<sup>-1</sup>, neat) 3101, 3026, 2988, 1728, 1681, 1481.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm) = 8.34 (d, 1H, J = 18.6 Hz, = CH-C=O), 8.10 (d, J = 18.6 Hz, 1H, = CH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.10 (d, 2H, J = 8.5 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.35 (d, 2H, J = 8.5 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.97 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 192.6, 187.3, 168.8, 147.0, 135.9, 133.2, 130.3, 127.1, 125.2, 101.3, 20.8.

MS/ESI, m/z 335 (MH<sup>+</sup>)

**4-hydroxy-6-méthyl-3-((Z)-3-p-tolylacryloyl)-2H-pyran-2-one 11e**



Rdt(%) :54%  
 Aspect: solide jaune  
 PF(°C) = 139-140°C  
 M(C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)= 270

De même que pour **11a** à partir de 1.84g (0.01mole) de 4-méthylbenzaldehyde, le composé **11e** est obtenu avec un rendement de 54%, PF°=139-140 ;

IR (cm<sup>-1</sup>, neat): 3083, 2932, 1720, 1624, 1581, 1611, 1547;

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ(ppm) = 8.14 (d, 1H, J = 15.4 Hz, = CH-C=O), 7.90 (d, J= 15.4 Hz, 1H, = CH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.12 (d, 2H, J = 8.2 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.42 (d, 2H, J = 8.2 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.95 (s, 1H, CH-C(OH)), 2.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 192.6, 183.1, 168.1, 145.7, 135.8, 130.9, 129.1, 130.0, 123.1, 102.9, 101.9, 20.6, 19.8

MS/ESI, m/z 271 (MH<sup>+</sup>)

# Chapitre IV

Evaluation de l'activité Antituberculeuse

1-Mise au point bibliographique

2-Résultats et discussions



## Introduction

La tuberculose est une maladie infectieuse transmise essentiellement par voie aérienne et provoquée par *Mycobacterium tuberculosis*. Elle affecte principalement les poumons (TB pulmonaire) mais peut toucher d'autres organes (TB extra-pulmonaire).

Sa longue coévolution avec l'homme fait de cette bactérie un modèle d'adaptation, mais également une des maladies infectieuses humaines les plus dévastatrices avec le VIH/sida et le paludisme [1].

La tuberculose est la neuvième cause de décès au plan mondial et la principale cause de décès due à un agent infectieux unique, devant le VIH/sida. En 2016, d'après les estimations, il y a eu 1,3 million de décès par tuberculose dans la population VIH-négative, auxquels se sont ajoutés 374 000 décès dans la population VIH-positive. On estime que 10,4 millions de personnes sont tombées malades de la tuberculose en 2016, dont 90% d'adultes, 65% de personnes de sexe masculin, et 10 % de personnes vivant avec le VIH (dont 74 % d'Africains) [2].

### IV-1 Historique, évolution et incidence de la tuberculose

Des études moléculaires suggèrent que la tuberculose est apparue pendant la période du paléolithique moyen, et qu'elle est restée sporadique jusqu'aux années 1700[1]. De même, *M. tuberculosis* a été identifiée dans des poumons de momies égyptiennes [3] et péruviennes [4], montrant l'existence d'infection des populations antiques de part et d'autre de l'océan Atlantique par cette mycobactérie.

Jusqu'à la révolution, la nature de la maladie est restée inconnue en Europe occidentale où elle est considérée comme héréditaire [5] et dont le seul traitement est le « toucher royal », consistant en l'apposition des mains du roi sur des malades afin qu'ils soient guéris par la grâce des pouvoirs divins du monarque [5-6].

Elle est ensuite devenue épidémique avec la révolution industrielle, en raison de l'augmentation de la densité de population et des conditions de vie défavorables [1].

En 1819, **René Théophile Hyacinthe Laennec** publie la première édition de son livre *D'Auscultation Mediate* dans lequel il expose la pathologie de la tuberculose ainsi que

différents signes cliniques de maladies pulmonaires. A cette époque, les malades étaient alors envoyés vers les sanatoriums, premiers établissements médicaux consacrés au traitement de la tuberculose dont le premier fut ouvert en 1854 [7]. En 1865, *Jean-Antoine Villemin*, un médecin militaire français, démontre la transmission d'espèce à espèce de la maladie notamment entre hommes et lapins [8]. Le 24 mars 1882 *Robert Koch* fait sa célèbre présentation *Die Aetiologie der Tuberkulos e* à Berlin lors de laquelle il révèle avoir identifié et isolé l'agent responsable de la tuberculose [9]. Sa contribution et ses avancées sur la tuberculose seront récompensées par le prix Nobel de physiologie en médecine en 1905. Cette découverte spectaculaire a permis à *Albert Calmette* et *Camille Guérin* de développer en 1921 le vaccin BCG (*Bacille de Calmette-Guérin*), premier vaccin contre la tuberculose [10].

Le traitement de la tuberculose a ensuite connu des avancées extraordinaires au début des années 1950 avec l'apparition des premiers antibiotiques tels que la streptomycine ou l'isoniazide, qui ont permis de réduire considérablement le nombre de décès suite à l'infection par *M. tuberculosis*. L'incidence de la maladie a diminué rapidement dans les pays développés avec l'amélioration des conditions sanitaires, d'alimentation et de logement. Cette décroissance s'est accélérée avec l'introduction du BCG et l'utilisation des antimicrobiens comme agents antituberculeux.

Cependant, malgré les efforts pour éradiquer cette maladie, en 2016, 6,3 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été signalés (contre 6,1 millions en 2015), soit 61 % de l'incidence estimée (10,4 millions) ; les dernières données sur les issues thérapeutiques montrent qu'au niveau mondial, 83 % des cas de tuberculose furent traités avec succès, soit un taux de guérison semblable à celui des dernières années. On a dénombré 476 774 cas de tuberculose dans la population VIH-positif (46% de l'incidence estimée), dont 85 % suivaient un traitement antirétroviral (TAR). Au total, 129 689 personnes entamèrent un traitement contre la tuberculose pharmaco-résistante, un chiffre en faible augmentation par rapport à 125 629 de 2015, mais ne comptant que pour 22% de l'incidence estimée ; le taux de guérison restait faible, s'établissant à 54% au niveau mondial [2].

Le traitement préventif de la tuberculose se généralise, en particulier, dans les deux groupes à risque prioritaires (personnes vivant avec le VIH et enfants de moins de

5ans). Cependant, la plupart des personnes éligibles pour un traitement préventif de la tuberculose n'y ont pas eu accès.

Au niveau mondial, toujours selon l'OMS le taux de mortalité par tuberculose (pour 100 000 habitants) a chuté de 37 % entre 2000 et 2016. Sur le plan régional, les baisses les plus rapides sont observées dans la Région européenne et dans la Région du Pacifique occidental (avec des reculs de 6,0 % et 4,6 % par an, respectivement, depuis 2010).

De nouveaux produits de diagnostic, médicaments, schémas thérapeutiques et vaccins sont en cours de mise au point, mais les progrès sont lents. Il faut accroître les investissements dans la recherche-développement si l'on veut avoir une quelconque chance de réaliser les avancées nécessaires d'ici à 2025 [2].

#### IV-1-1 Incidence de la tuberculose en Algérie :

Plusieurs périodes de l'évolution de situation épidémiologique de la tuberculose ont été identifiées et qui correspondent à des changements socioéconomiques ou dans la prise en charge de la maladie (Fig. IV-1). Avant l'indépendance, l'incidence de la tuberculose tournait autour de 300 cas pour 100 000 habitants. Au lendemain de l'indépendance et jusqu'à la fin des années 80, il y a eu une réduction considérable du risque annuel de l'infection, de la morbidité liée à la maladie ainsi que la régression spectaculaire de la tuberculose de l'enfant. À partir de 1990, la courbe de l'évolution de la tuberculose connaît une stagnation puis une élévation à cause de nombreux problèmes (les mouvements de population, la pauvreté et les conditions de vie, la co-infection avec le VIH, la résistance aux antibiotiques). À partir de l'année 2000, la relance des activités du programme antituberculeux a permis de constater une régression de l'incidence des cas de tuberculose pulmonaire contagieuse qui ont décliné au-dessous du seuil de 17 cas pour 100 000 habitants en 2016. Durant cette période, l'incidence de la tuberculose extra pulmonaire déclarée augmente rapidement dépassant de loin celle de la source de la maladie (TP) ces dernières années [11].

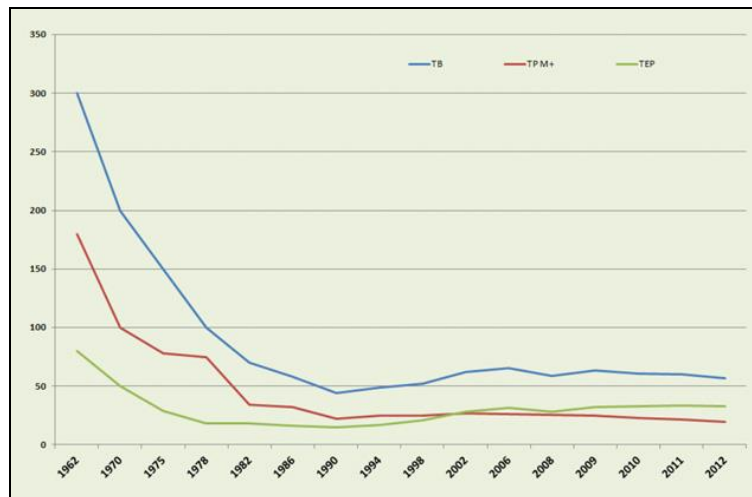


Figure. VI-1 : Évolution du taux de la tuberculose en Algérie (1962-2012)

En Mars 2018, le ministre de la santé, de la population et de la réforme hospitalière a affirmé que sur les 22746 cas de tuberculose déclaré en Algérie en 2017, 7389 cas soit 32.5% étaient des cas de tuberculose pulmonaire, dont 6011 cas de tuberculose contagieuse, il a indiqué également que l'incidence de la TB est de 14.8 cas pour 100.000 habitants ce qui représente 0.148%, tandis que 22389 cas dont 7964 soit 35.57% cas de tuberculose pulmonaire et 64.4% de tuberculose extra-pulmonaire ont été enregistrés en 2016.

Ces résultats sont le fruit du programme national de lutte qui donne la priorité à la détection et au traitement des cas contagieux.

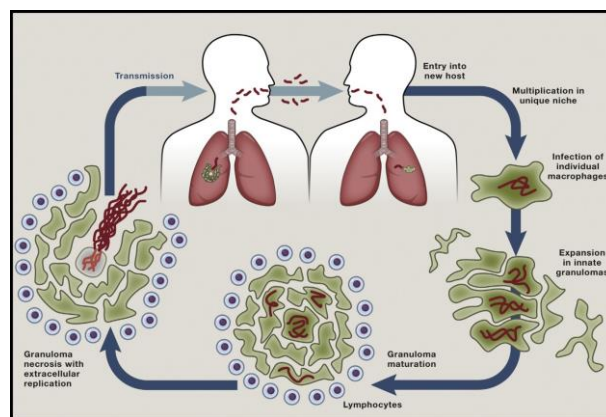
Cependant la tuberculose extra pulmonaire continue de dominer le paysage de la maladie avec une incidence de 37 cas pour 100.000 habitants [12].

## IV-2 Physiopathologie de la tuberculose

L'agent pathogène de la TB est *M. tuberculosis*. Un tiers de la population mondiale est porteuse de cette bactérie mais seulement 2 à 23% des personnes infectées développeront la maladie [13]. La TB se transmet par inhalation de bacilles de *M. tuberculosis* vivants. Lorsqu'un malade atteint d'une TB pulmonaire tousse, il émet des microgouttes dans l'atmosphère qui contiennent des bactéries. Ces gouttes peuvent rester dans l'air plusieurs heures. En considérant que la dose pour l'infection est de un à dix bacilles, la transmission de la maladie est donc très facile. Une fois dans l'alvéole pulmonaire, les bactéries sont phagocytées par les macrophages (Figure IV-2), première

défense contre les microbes pathogènes qui sont tués grâce au pH interne des macrophages qui est très acide. *M. tuberculosis* fait partie des pathogènes (comme *Legionella*, *Brucella* et *Erichia*) qui ont développé des stratégies pour survivre dans le macrophage [14]. A l'intérieur du macrophage, les bactéries se divisent rapidement avec une croissance exponentielle, ce qui entraîne une réponse pro-inflammatoire durant laquelle le macrophage pénètre l'épithélium et recrute des cellules mononucléaires des vaisseaux sanguins adjacents. Ces monocytes forment le premier granulome. Le macrophage infecté se différencie en plusieurs types de macrophages : les cellules géantes multinucléaires, les cellules épithélioïdes et les macrophages spumeux (ou foamy). A ce stade, l'infection est confinée et les bactéries ont cessé de se reproduire. Le granulome mature développe une couche fibreuse entourée de lymphocytes qui englobe les macrophages. Quand l'infection progresse, on assiste à une accumulation du caséum dans le centre du granulome conduisant à une nécrose des tissus. Dans 90% des cas, le granulome se calcifie, et quelques bacilles survivent à l'intérieur dans un état stationnaire ; c'est ce qu'on appelle l'infection TB latente. L'infection est sous le contrôle du système immunitaire et elle peut rester dans cette phase pendant plusieurs années. Par contre, quand l'infection progresse, le caséum, centre nécrotique du granulome, se liquéfie et on assiste à une rupture du granulome et à la libération des bactéries. Les bacilles se multiplient à l'extérieur des cellules dans le caséum liquide et la population bactérienne devient très importante. Des dommages tissulaires provoquent une érosion bronchique et la formation d'une cavité (caverne). L'ouverture de cette cavité permet aux bacilles de disséminer via les voies aériennes dans les autres parties du poumon et dans l'environnement extérieur [13,15].

La TB peut atteindre aussi d'autres organes. Parmi les localisations extra-respiratoires, il faut citer l'atteinte osseuse et la méningite tuberculeuse.



FigureIV- 2 : Histoire naturelle de la tuberculose et immunité antituberculeuse [16]

### IV-3 Les *Mycobacterium tuberculosis*

#### IV.3.1. Présentation

Le genre *Mycobacterium* correspond à des bacilles aérobies à croissance plus ou moins lente appartenant à la famille des *Mycobacteriaceae* sous l'ordre des *Actinomycetales* [17]. Celui-ci est composé de près de 170 espèces, dont certaines sont pathogènes pour l'homme : *M. tuberculosis* (responsable de la tuberculose), *M. leprae* (responsable de la lèpre) et *M. ulcerans* (responsable de l'ulcère de *Buruli*). Les espèces de *Mycobacterium* responsables de la tuberculose sont regroupées dans le complexe *Mycobacterium tuberculosis* comprenant les sous-espèces : *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. orygis* et *M. mungi* [18]. Cependant, dans 99% des cas, l'espèce responsable de la tuberculose est *M. tuberculosis*. *M. africanum* n'est pas répandu à l'échelle mondiale et 20 à 50% des cas sont rapportés en Afrique. *M. bovis* est responsable de la tuberculose chez les bovins et est aussi pathogène pour l'homme par contamination du lait par cette bactérie. Enfin, bien que rares, certains cas de tuberculose ont été observés chez l'homme pour les autres sous-espèces du complexe *Mycobacterium tuberculosis* [17,18].

#### IV-3-2 Morphologie

Selon la définition classique du genre *Mycobacterium*, reposant sur les propriétés morphologiques, les bacilles tuberculeux sont rectilignes ou légèrement incurvés, aérobies ou micro aérophiles, non sporulants et dépourvus de capsule. [19] (Figure IV-3). Certaines mycobactéries apparaissent comme filamenteuses ou en mycélium. De nombreuses espèces produisent des pigments de type caroténoïdes, conférant aux colonies une couleur jaune à orange foncé, après photo-induction ou en absence de toute exposition à la lumière.

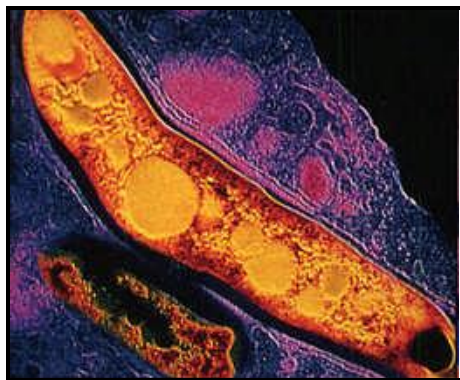


Figure IV-3: Structure d'une mycobactérie tuberculeuse au microscope électronique [20].

La croissance de *M. tuberculosis* est particulièrement lente avec un temps de 12 à 24h [19] et donne en 21 à 28 jours, sur milieu enrichi, de grosses colonies en « chou-fleur » de 3 à 4 mm avec des bacilles de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de long et de 0,3 à 0,5  $\mu\text{m}$  de large (Figure IV-4).

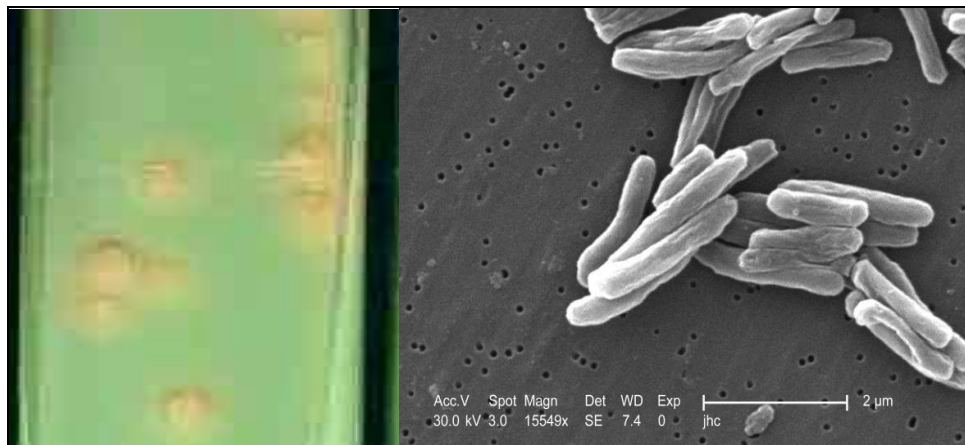


Figure VI-4: Colonies de *Mycobacterium tuberculosis*

#### IV-3-3 Particularité du genre *Mycobacterium*

Le genre *Mycobacterium* est défini par 3 critères:

- L'acido-alcool-résistance

Cette propriété est liée à la richesse de la paroi bactérienne en lipides et entraîne une imperméabilité aux colorants usuels ainsi qu'une résistance à la décoloration par un traitement acide/alcool. En revanche, la paroi fixe de façon intense les colorants alcalins tels que la fuchsine basique. La coloration de Ziehl-Neelsen, basée sur cette propriété, est utilisée pour la réalisation de l'examen microscopique [21].

- La composition en acides mycoliques

Ces acides gras insaturés à longue chaîne carbonée (C60 à C90) sont le support de l'acido-alcool-résistance et constituent un critère taxonomique de choix car leur structure varie selon les espèces bactériennes. Des acides mycoliques, absents du règne bactérien à l'exception de quelques genres voisins (*Corynebacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, *Dietzia* et *Gordonia*) [21-22].

**• Le contenu de l'ADN en Guanine et Cytosine**

Le GC% des mycobactéries est compris entre 61 et 71%, à l'exception de *Mycobacterium leprae* dont le GC% est compris entre 54 et 57%. Ce pourcentage élevé explique que les 2 brins d'ADN soient fortement liés et impose des conditions techniques particulières pour rompre les 3 liaisons Hydrogène [21].

Les mycobactéries sont très résistantes à la dessiccation et survivent jusqu'à plusieurs années à l'état desséché. La description de différentes techniques de coloration des membranes bactériennes par *Gram* en 1884 [23] a permis l'établissement de deux familles distinctes, suivant les résultats obtenus au test de coloration de *Gram* : les bactéries *Gram* positif et *Gram* négatif. Cette distinction peut être reliée à la morphologie de la cellule et plus particulièrement l'architecture de la membrane bactérienne [24].

Bien qu'elles ne se colorent que très faiblement par la coloration de *Gram*, les mycobactéries ont longtemps été rattachées aux bactéries à *Gram* positif mais leur paroi possède toutefois des caractéristiques communes aux bactéries à *Gram* négatif [25]

**IV-3-4 Paroi mycobactérienne du genre *Mycobacterium***

La capacité de *M. tuberculosis* à survivre et à se répliquer dans la cellule hôte phagocytaire, constituant un environnement extrêmement hostile pour la plupart des autres microorganismes, représente l'un des aspects clés de sa virulence. Ainsi, la paroi mycobactérienne complexe de *M. tuberculosis*, peu perméable, est son principal facteur devirulence et elle contribue à la résistance de la mycobactérie envers les traitements classiques [20].

L'enveloppe cellulaire des mycobactéries est constituée de trois composants structuraux [27] :

- Une membrane plasmique typique, à laquelle peuvent être associés des caroténoïdes donnant la couleur jaune-orange aux mycobactéries photochromogéniques [28]. Elle ne joue pas de rôle dans la pathogénicité de la bactérie ; la paroi, qui possède les caractéristiques des bactéries à *Gram* négatif [25]. Elle est composée de peptidoglycane



(motif de base : polymère de N-acétylglucosamine- $\beta$  1-4-acide N-glycolylmuramique) relié de manière covalente à un hétéroside,

-L'arabinogalactane, qui est lui-même estérifié par des acides mycoliques. C'est la paroi qui confère aux mycobactéries la résistance à la plupart des antibiotiques et des désinfectants, ainsi qu'une résistance à l'action de bases et d'acides [28-29].

-Une capsule : un mélange de polysaccharides, protéines et lipides, avec une composition différente entre mycobactéries pathogènes et non-pathogènes [30]. Chez les espèces pathogènes, la présence de certains glycanes dans la capsule est fondamentale pour l'interaction avec le macrophage et pour inhiber la réponse pro-inflammatoire. La capsule représente aussi une barrière passive qui empêche la diffusion de macromolécules à l'intérieur de l'enveloppe bactérienne. Elle sécrète des enzymes impliquées dans la détoxification d'intermédiaires d'oxygène réactifs (catalase, peroxydase, superoxydedismutase) qui sont impliqués dans la résistance de la bactérie aux mécanismes microbicides de l'hôte [27] (Schéma IV-1).

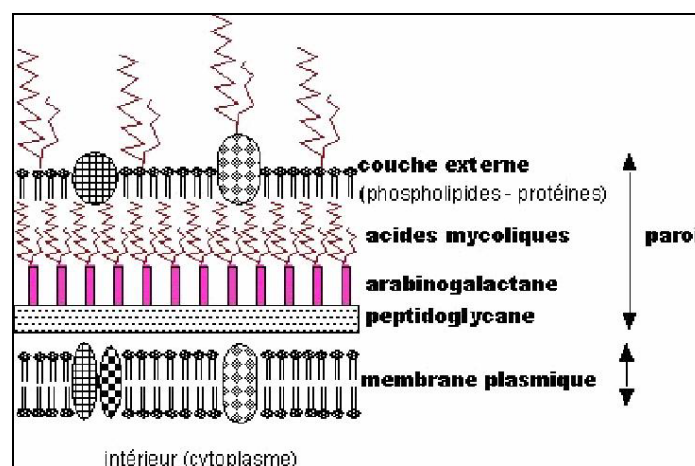


Schéma IV-1 : L'enveloppe mycobactérienne [26].

#### IV-3-5 Acide mycolique

La paroi cellulaire mycobactérienne est inhabituelle dans le sens qu'elle contient de très grands acides gras  $\beta$ -hydroxylés  $\alpha$ -alkylés appelés acides mycoliques (Figure IV-5) [31]. Les acides mycoliques sont les principaux constituants de la paroi cellulaire mycobactérienne et contribuent à la perméabilité et à l'intégrité de la membrane externe ainsi qu'à la virulence [32, 33].

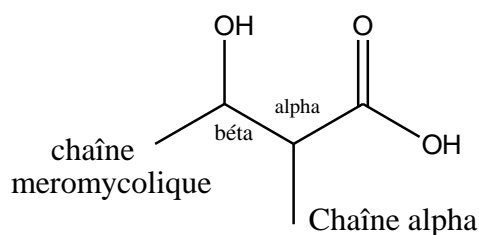


Figure IV-5 : Structure du motif mycolique.

Chez *M. tuberculosis*, la chaîne  $\alpha$ -alkyle comprend entre 24 et 26 atomes de carbone et la chaîne  $\beta$ , dite chaîne méromycolique, plus longue, est composée de 54 à 63 atomes de carbone. Quatre classes d'acides mycoliques sont représentées chez *M. tuberculosis*: les acides  $\alpha$ -, méthoxy-, céto- et hydroxy-mycoliques (Figure IV-6) [35]. Les plus représentés (plus de 70%) sont les acides  $\alpha$ -mycoliques contenant deux cyclopropanes de configuration *cis* sur la chaîne méromycolique. Les acides méthoxy-, céto- et hydroxy-mycoliques comportent un cyclopropyle en position proximale (P) de conformation *cis* ou *trans* et, respectivement, une fonction chimique : méthoxy, cétone ou hydroxy, en position distale (D).

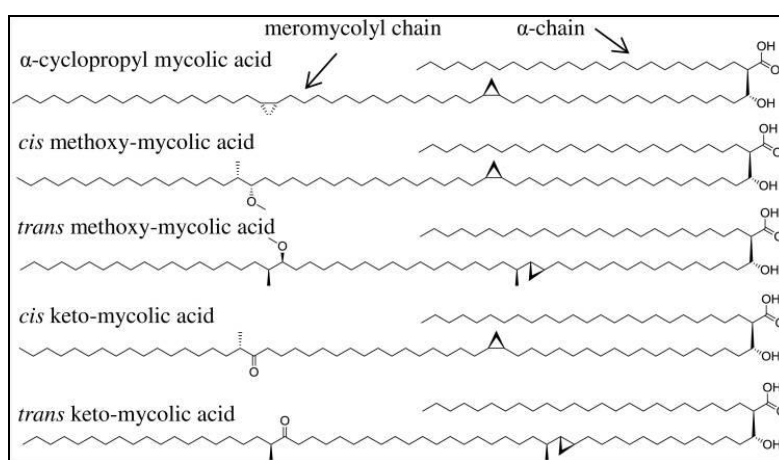


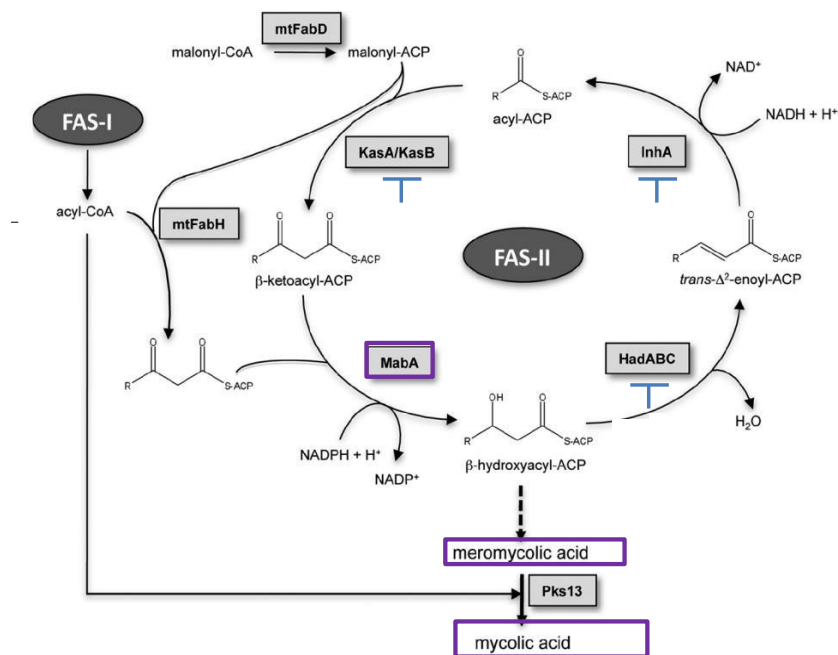
Figure IV-6 : Structure des acides mycoliques

#### IV-3-5-1 Biosynthèse des acides mycoliques

La biosynthèse de ces molécules complexes comprend quatre étapes principales :

- la synthèse des acides gras saturés de C<sub>22</sub>-C<sub>26</sub>
- la synthèse de la chaîne méromycolique (C<sub>40</sub>-C<sub>60</sub>).
- La modification de cette chaîne par l'introduction des groupements fonctionnels.

□ L'étape finale de condensation de type Claisen de la chaîne méromycolique produisant des acides mycoliques [36] (SchémaIV-2).



SchémaIV -2 : Biosynthèse des acides mycoliques mycobactériens : les systèmes FAS-I et FAS-II.

La biosynthèse des acides mycoliques est réalisée par plusieurs cycles enzymatiques successifs constitués par la combinaison de quatre types de réactions enzymatiques : Condensation, réduction, déshydratation et réduction. Les systèmes enzymatiques impliqués dans la synthèse des acides mycoliques correspondent à deux systèmes apparentés mais bien distincts, les systèmes *Fatty Acid Synthase* (FAS) de type I et II [20].

L'acide gras synthase de type I (**FAS-I**) est une enzyme commune aux mammifères, champignons et bactéries. Cette enzyme multi-domaines produit des acides gras avec une distribution bimodale C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub> et C<sub>24</sub>-C<sub>26</sub> ; ces derniers correspondant à la chaîne  $\alpha$  des acides mycoliques.

□ L'acide gras synthase de type II (**FAS-II**), présente chez les plantes et les bactéries, est caractérisée par une série d'enzymes solubles monofonctionnelles. Ces enzymes sont responsables de l'élongation des acides gras issus de FAS-I et ainsi de la formation des longues chaînes méromycoliques.

On pense que la couche riche en acide mycolique résultante de la biosynthèse forme une membrane lipidique pseudo-externe qui protège la cellule [37]. Ainsi, il n'est pas surprenant que depuis l'avènement de la chimiothérapie antituberculeuse, l'inhibition de la biosynthèse de l'acide mycolique soit l'une des cibles médicamenteuses les plus exploitées et les plus réussies [38, 39].

#### IV-3-5-2 L'énoyl-ACP réductase de *M. tuberculosis* : InhA

Au sein de FAS-II, parmi les cibles potentielles, l'enzyme InhA, une énoyl-[acylcarrier-*protein*] réductase présente un intérêt particulier. En effet, l'enzyme InhA a fait ses preuves en tant que cible de deux antituberculeux majeurs, l'isoniazide et l'éthionamide. De plus, cette enzyme est une cible de choix puisque l'homme ne possède pas d'enzyme orthologue à l'InhA, limitant ainsi les effets secondaires. L'enzyme InhA est une enzyme NADH-dépendante, produite par la mycobactérie et essentielle pour la biosynthèse des acides mycoliques. Enzyme de la famille des déshydrogénases/réductases, elle catalyse la dernière étape de réduction du cycle d'élongation de FAS-II [40]. L'enzyme InhA catalyse spécifiquement la réduction de la double liaison *trans* des substrats à longue chaîne d'énoylthioester [41]. L'inhibition de l'enzyme InhA entraîne une altération de la paroi mycobactérienne et conduit à la lyse de la cellule mycobactérienne [41] (Schéma IV-3).

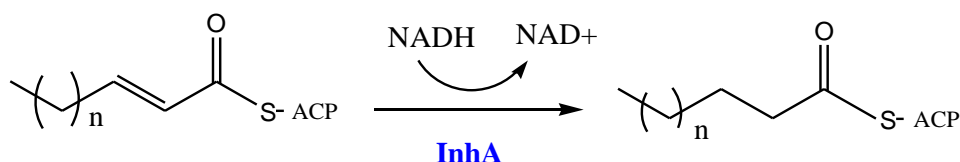


Schéma IV-3 : Représentation de la réaction de réduction du substrat énoyl-ACP par l'enzyme InhA

### IV-4 Le diagnostic bactériologique de la tuberculose

La preuve de la maladie tuberculeuse est apportée par la mise en évidence des mycobactéries. La mise en évidence peut être directe :

- L'examen microscopique de matériel coloré (expectorations, matériel de ponction), par la méthode de Ziehl-Neelsen ou par l'auramine constitue encore actuellement l'étape fondamentale du diagnostic de la tuberculose [42].

- Le nombre des bacilles observés sur les frottis correspond à la contagiosité du malade et un examen direct positif correspond à au moins 10 000 bactéries par mL.
- Culture (méthodes traditionnelles ou rapides), est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique [43-44] et permet l'identification de la mycobactérie isolée ainsi que la mesure de sa sensibilité aux antibiotiques.

Les délais des cultures dépendent de la richesse en bacilles et sont en moyenne, respectivement pour les milieux solides et liquides, de 3 et 1 semaines pour les prélèvements positifs à l'examen microscopique et de 4 et 2 semaines pour les prélèvements négatifs à l'examen microscopique [45].

Ou indirecte, par la détection de la présence d'ADN ou d'ARN mycobactérien (techniques d'amplification). Le dépistage des cas de tuberculose pulmonaire associe souvent la radiographie et la bactériologie dans les centres urbains. Aussi la radiographie thoracique (recherche de lésion pulmonaire) peut constituer un élément déterminant pour les demandes de mise en évidence du bacille tuberculeux par des examens microscopiques répétés lorsque le premier examen est négatif [46].

Certaines innovations se substituent au quotidien aux techniques plus anciennes comme par exemple, l'identification des mycobactéries du complexe *tuberculosis* par immunochromatographie ou la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF à partir des cultures positives ou l'antibiogramme en milieu liquide. Les nouveaux outils qui utilisent les techniques moléculaires ont pris une place importante. Elles ont toutes pour point commun d'optimiser la lutte contre la tuberculose en diminuant le délai du diagnostique. Elles permettent aussi d'accélérer la détection de la résistance aux antituberculeux. Néanmoins, les techniques d'amplification génique directement à partir des prélèvements cliniques restent toujours moins sensibles que la culture. Le diagnostic bactériologique de la tuberculose repose donc encore sur la complémentarité des différentes techniques phénotypiques et moléculaires [47].

## IV-5 Lutter contre la tuberculose

### IV-5-1 Le BCG

La vaccination par le BCG est un élément important de la lutte antituberculeuse, d'autant plus efficace qu'elle est effectuée plus tôt dans la vie. L'efficacité et le faible coût du vaccin BCG en font le vaccin le plus largement utilisé dans le monde avec plus de 3 milliards de personnes vaccinées [48]. En Algérie la vaccination par BCG à la naissance est obligatoire depuis 1969 par décret ministériel [49].

(BCG) provient d'une souche de *Mycobacterium bovis* isolée à partir d'une mammite de bovidés. C'est une mycobactérie ayant les mêmes caractéristiques morphologiques et culturelles que *Mycobacterium tuberculosis*. La virulence de la souche s'est atténuée suite aux passages en culture spéciale sur des milieux artificiels pendant des années (Calmette et Guérin l'ont obtenu après 230 passages sur pomme de terre biliée glycérinée pendant 13 années de 1908 à 1921 !)

En 1921 Calmette disposait donc d'un vaccin sûr d'après les expérimentations animales et il décida de faire la première vaccination humaine, le 18 juillet, à la crèche de la maternité de l'hôpital de la Charité à Paris [50].

Le BCG est efficace dans la prévention de la majorité des formes virulentes de MTB chez les enfants et les nouveaux nés, mais son efficacité de prévention chez l'adulte est limitée lorsque la population est en contact régulier avec le pathogène, comme dans les pays à forte incidence en tuberculose virulente. Cette sensibilisation préalable à l'agent pathogène induit un niveau d'immunité antimycobactérienne ne fournissant pas une protection significative contre l'infection par *M. tuberculosis* et portant atteinte à la capacité du BCG à persister dans les tissus hôtes après la vaccination, ce qui rend le BCG moins efficace [48].

### IV-5-2 traitement de la tuberculose

Le traitement recommandé par l'OMS pour une TB pulmonaire de patients HIV-négatifs est une quadrithérapie de 6 mois par des antituberculeux dit de première ligne : 2 mois d'isoniazide, rifampicine, pyrazinamide et éthambutol (Figure 4), suivi de 4 mois d'isoniazide et rifampicine avec une dose journalière ou trois administrations par semaine (WHO Guidelines 2009).

## IV-5-2-1 Mode d'actions des anti-tuberculeux :

A ce jour, trois principaux modes d'action sont exploités pour traiter les cas de tuberculose :

- la perturbation de la paroi de la mycobactérie (**Isoniazide, Ethionamide, Ethambutol (EMB), Cyclosérine, Pyrazinamide**)
- l'inhibition de la traduction de l'ARN en protéine **Les aminoglycosides (streptomycine 100), Capréomycine .**
- l'inhibition de la transcription de l'ADN. **Rifampicine, Les fluoroquinolones**

Certains antituberculeux ont d'autres modes d'action, le Pyrazinamide agit sur le métabolisme et l'Acide *p*-aminosalicylique cible la Dihydrofolate réductase.

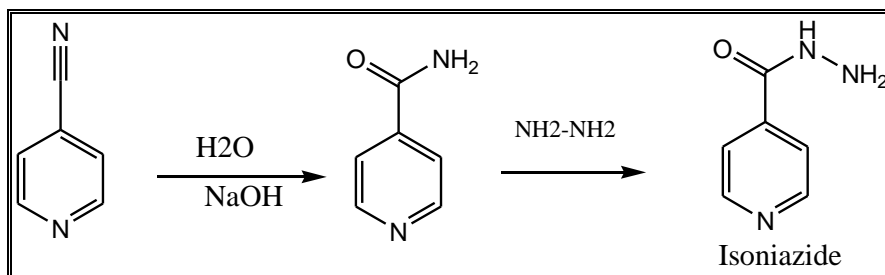
## IV-5-2-2 Les anti-tuberculeux :

Les antituberculeux de première ligne, sont les molécules considérées comme les plus actives à ce jour : l'isoniazide (INH), la rifampicine (RIF), le pyrazinamide (PZA), la streptomycine (SM) et l'éthambutol (EMB). Des antituberculeux comme la RIF ou le PZA [51], ont permis la réduction du temps de traitement de 12-18 mois à 6-9 mois.

A ces antibiotiques de première ligne, sont associés d'autres antibiotiques dits de deuxième ligne parmi lesquels : l'amikacine, la capréomycine, la kanamycine, la Dcyclosérine, l'éthionamide (ETH), l'acide *p*-aminosalicylique (PAS) et la lévofloxacine. Ces antituberculeux présentent des effets secondaires plus fréquents rendant le traitement très difficile.

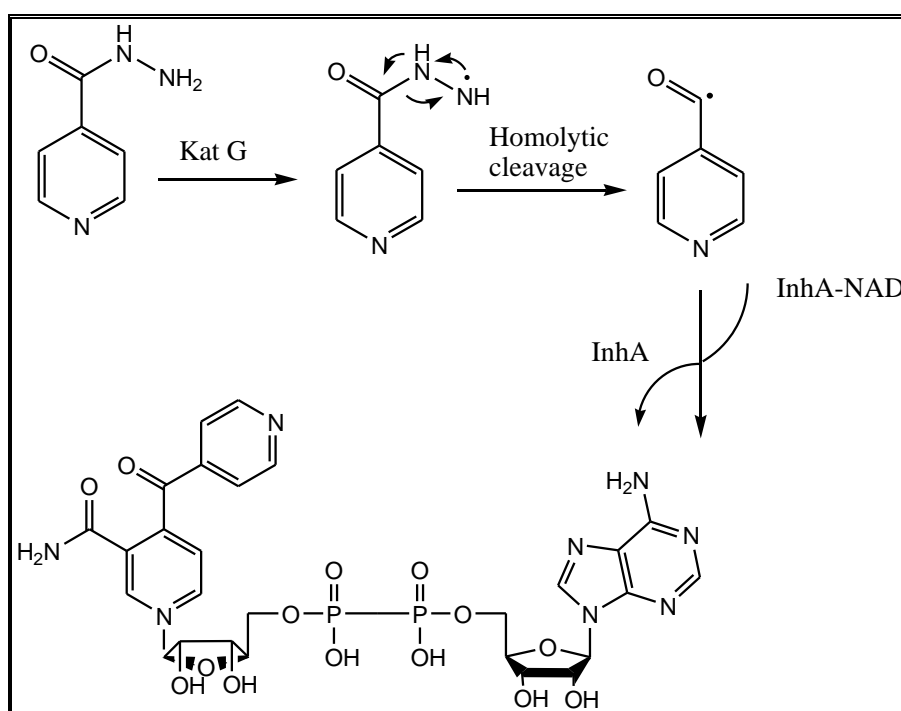
**Isoniazide (INH)**

Découvert en 1912, ses propriétés antituberculeuses n'ont été décrites qu'en 1952. L'INH est l'un des antituberculeux les plus efficaces dans le traitement de la tuberculose avec une CMI d'environ 0,2 µM. L'INH est un antituberculeux majeur bactéricide exclusivement réservé, en association, à la prophylaxie au traitement de la tuberculose sous toutes ses formes, ainsi que pour le traitement des mycobactérioses.



Shéma IV-4 : Synthèse de l'Isonizide

L'isonizide est une prodrogue, pour agir elle doit être activée dans un premier temps par l'action d'une enzyme catalase peroxydase du *M. tuberculosis* appelé katG [52]. L'étape suivante consiste en l'inhibition cellulaire constituée par l'interférence de la forme active de l'INH avec la production des acides mycoliques. L'une des cibles préférentielles serait l'énoyl-ACP réductase (InhA). L'activation katG produit des radicaux différents, y compris le monoxyde d'azote, induisant dissociation du NAD de l'InhA, menant à l'arrêt de la synthèse des acides mycoliques puis à une lyse cellulaire [53].



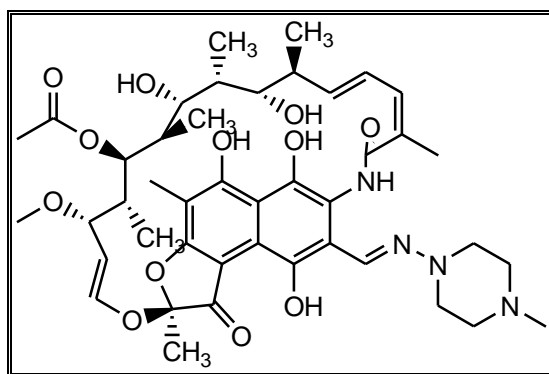
Shéma IV-5 : Activation de INH par KatG et formation du complexe isonicotiny-NAD, qui est un inhibiteur InhA non covalent



## B. Rifampicine (RMP)

Composé naturel isolé de *Streptomycesmediterrani*. Introduite sur le marché en 1967, la rifampicine a radicalement changé le traitement de la tuberculose. Avec une CMI d'environ 0,5  $\mu\text{M}$ , sur le *Mycobacteriumtuberculosis* elle également active sur *Mycobacteriumbovis* ainsi que sur certaines mycobactéries atypiques.

La rifampicine appartient à la famille des rifamycines. Sa structure chimique comporte un noyau chromogène (naphtoquinone), une longue chaîne aliphatique composée de 24 chaînons dans lesquels on note la présence de 5 groupements méthyles.

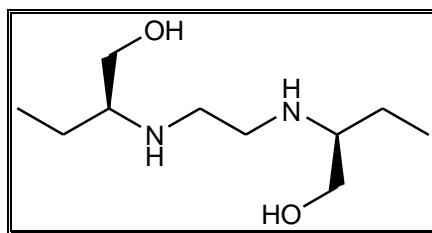


Rifampicine (RMP)

Antituberculeux majeur, son association à l'INH reste la clef de voûte du traitement actuel de la tuberculose sous toutes ses formes en raison du faible taux de résistance primaire. Elle cible, quant à elle, la transcription de l'ADN mycobactérien [54].

## Éthambutol (EMB)

L'EMB a été synthétisé en 1961 et rapporté pour ses propriétés antituberculeuses sur souches sensibles et résistantes à l'INH ainsi que pour sa faible toxicité [55]. Dans le schéma thérapeutique antituberculeux, le rôle de l'EMB est de protéger la rifampicine contre la sélection de mutant RMP-résistant. L'éthambutol est un dérivé de l'éthylène diamine (NN',dihydroxybutyl éthylène diamine), le sel utilisé en thérapeutique est le dichlorhydrate du composé dextrogyre.



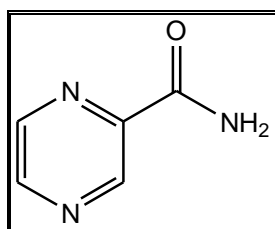
Éthambutol (EMB)

Sa CMI est autour de 2,5  $\mu\text{M}$  .qui s'attaquent principalement aux enzymes impliquées dans la biosynthèse de la membrane mycobactérienne [56].

### Pyrazinamide (PZA)

Proche de l'isoniazide, le pyrazinamide (PZA) était connu depuis 1952 mais avait été rapidement abandonné en raison de sa toxicité hépatique : des études longues et nombreuses ont conduit à le réhabiliter dans les années 1980.

Le pyrazinamide est un antituberculeux strict actif sur *Mycobacterium tuberculosis* et sur *Mycobacterium africanum*; sa particularité est d'être actif uniquement à l'acidité sur les bacilles dormants résidant en milieu acide,

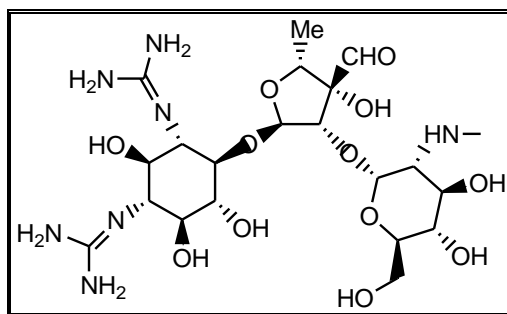


Pyrazinamide (PZA)

Avec une CMI = 130 – 400  $\mu\text{M}$ . Son addition à la trithérapie classique (INH, RMP, EMB) a permis de réduire la durée du traitement à 6 mois. Bien que ciblant la paroi mycobactérienne, le PZA n'inhibe la synthèse d'aucun de ses constituants mais agit selon un mode d'action non conventionnel et encore mal compris. En effet, dans les conditions de cultures classiques, dans lesquelles le pH est neutre, le PZA n'est pas actif vis-à-vis de *M. tuberculosis* [57].

### La streptomycine

Découverte en 1944 par Waksman [58], la streptomycine est un aminoglycoside extrait des souches de *Streptomyces griseus*. La streptomycine a été le premier antituberculeux majeur avant l'isoniazide. Antibiotique bactéricide à large spectre (*Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Brucella*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Shigella*...). Son activité sur le BK est dix fois plus faible que celle de l'INH, il est bactéricide en milieu alcalin.



La streptomycine

Avec une CMI de 1  $\mu\text{g/mL}$ , agit en inhibant principalement la biosynthèse des protéines bactériennes. En association à d'autres molécules, elle est prescrite en cas de tuberculose très bacillifère ou de tuberculose multirésistante

la streptomycine inhibe efficacement et spécifiquement la traduction des protéines chez les bactéries, conduisant ainsi à leur mort rapide [56].

L'apparition de résistances aux antituberculeux de 1ère ligne nécessite d'employer des antituberculeux de seconde ligne dans les cas où la polychimiothérapie n'est pas efficace. Ces médicaments sont souvent moins puissants, plus toxiques (plus d'effets secondaires), plus coûteux et moins pratiques d'utilisation lorsqu'il s'agit d'injectable. Dans le cas de tuberculoses multi-résistantes, le traitement peut comprendre jusqu'à cinq principes actifs et durer deux ans.

La figure IV-7 regroupe les anti-tuberculeux de deuxième ligne [56] les plus couramment utilisés.

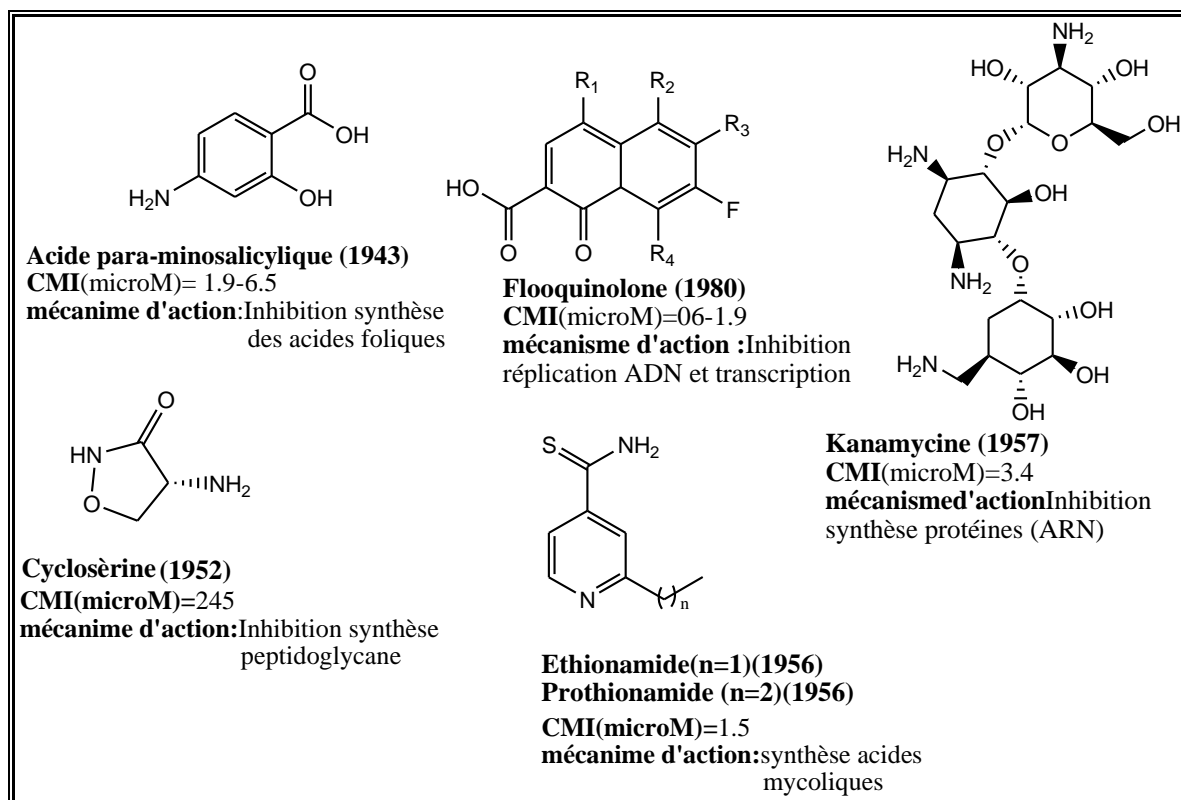


Figure IV-7 : Les antis-tuberculeux de deuxième ligne les plus couramment utilisés.

#### IV-6 Résistance mycobactérienne aux antibiotiques

Malgré la grande diversité des composés disponibles et les différents mécanismes ciblés, de nouvelles souches résistantes ont continué à apparaître. On distingue aujourd'hui deux catégories de souches pharmaco-résistantes et donc particulièrement dangereuses [56,59].

- Les souches multi résistantes, ou MDR (Multi-Drug Resistant), qui présente une résistance simultanée aux deux principaux antituberculeux de première ligne, la rifampicine et l'INH.
- Les souches ultra résistantes ou XDR (eXtensively-Drug Resistant), qui présentent des résistances aux antibiotiques de première ligne ainsi qu'à plusieurs antibiotiques de seconde ligne.

La résistance biologique d'une espèce bactérienne aux antibiotiques se définit en examinant la distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des populations considérées.

On parlera de résistance quand ces CMI sont augmentées de façon mesurable et constante par rapport à une population sauvage [60]. La résistance pharmacologique se définit par une valeur de CMI trop élevée pour permettre un traitement efficace par un antibiotique donné, tenant compte de sa posologie [61].

#### IV-6-1 Modes de résistances mycobactériennes aux antibiotiques

On distingue deux grandes situations, à savoir la résistance naturelle (ou intrinsèque) d'une part et la résistance acquise d'autre part.

La résistance naturelle est celle qui est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est censée préexister à l'usage des antibiotiques. Elle constitue donc une caractéristique propre à l'espèce et délimite en fait le spectre d'activité des antibiotiques. On parle ici d'espèces insensibles [62].

La résistance acquise apparaît, quant à elle, au sein d'une espèce suite à l'utilisation des antibiotiques. On parle donc ici de souches insensibles (ou, si la résistance est de bas niveau, de souches à sensibilité diminuée). Les principaux mécanismes mettent en jeu quatre grands types de stratégies, toutes sous contrôle génétique, à savoir:

la stratégie offensive (la bactérie produit une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique) [63].

- Des enzymes bactériens en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations [64].

la stratégie d'évitement (une modification de la cible de l'antibiotique rend ce dernier inefficace) Par mutation [63].

- Les modifications apportées à la structure de la cible peuvent conférer une résistance en empêchant l'antibiotique de se lier correctement, mais tout en permettant encore à la cible d'accomplir sa fonction normale. Dans le cas du traitement de la tuberculose, les cas de résistances à la prodrogue INH ont notamment pour origine une mutation de l'enzyme cible InhA, diminuant l'affinité de liaison du métabolite actif de l'INH

la stratégie de contournement (l'antibiotique atteint sa cible et interagit avec elle mais la bactérie est capable d'utiliser d'autres voies métaboliques pour suppléer au manque d'activité de la cible primaire) par protection [63].

- La modification ou la protection de la cible peuvent également avoir lieu sans impliquer de mutation génétique de celle-ci. Par exemple, la résistance aux macrolides et lincosamides est provoquée par la méthylation de leur cible (ribosome), empêchant ainsi les antibiotiques de se lier à celle-ci [65].

la stratégie de la protection physique qui consiste soit à empêcher l'entrée de l'antibiotique dans la bactérie (imperméabilisation) soit à l'expulser (efflux actif) [63].

- des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments.. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible [66].

#### IV-6-2 Approche pour contourner la résistance par inhibition directe de l'InhA :

Face à la recrudescence des souches MDR, XDR et l'impasse thérapeutique à laquelle elles mènent, un grand nombre de laboratoires travaillent sur le développement de nouvelles stratégies de lutte [67].

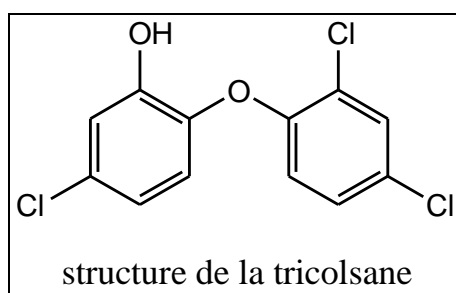
Par conséquent, une nouvelle génération d'inhibiteurs compétitifs des substrats non covalents non-promédicaments de InhA est en cours de développement. Étant donné que la plupart des résistances cliniques à l'INH sont principalement dues à des mutations dans l'enzyme activatrice KatG, de nouveaux inhibiteurs ciblant directement InhA pourraient être actifs contre les souches résistantes à l'INH [68].

Les pro-drogues exercent leur activité antimycobactérienne via les métabolites actifs issus de leur bioactivation et les résistances liées aux enzymes d'activation empêchent la formation de ces métabolites actifs. L'une des approches développées pour contourner ces résistances est d'utiliser le métabolite actif, ou un analogue, issu de l'activation de la

prodrogue pour inhiber directement sa cible. Le métabolite actif ne peut généralement pas être utilisé en tant qu'inhibiteur direct de l'enzyme pour des raisons de perméabilité, comme pour l'acide pyrazinoïque, métabolite actif de la pyrazinamide, ou d'instabilité comme pour les adduits INH-NAD.

Cette stratégie a été développée pour les pro-drogues INH et ETH dont la bio-activation conduit à la formation d'adduits INH-NADH et ETH-NADH, inhibiteurs de l'enzyme InhA. Elle consiste à synthétiser des inhibiteurs directs de l'enzyme InhA, ne nécessitant donc pas d'activation enzymatique [69].

Citons le triclosane, un inhibiteur compétitif de cette classe d'enzymes bactériennes [70] antibiotique à large spectre avec une activité modeste sur MTB (CMI= 43  $\mu$ M). Le triclosane est un inhibiteur direct de l'enzyme InhA (IC = 0,2  $\mu$ M) . Par la suite, le laboratoire Sacchetti a mis au point une variété d'analogues de triclosane présentant une activité antituberculeuse [71].



Plusieurs autres familles d'inhibiteurs avec différents échafaudages, à savoir les diaryléthers[72]pyrrolidinecarboxamides[73], pipérazine les indoleformamides[74][40], arylamides[75], méthyl thiazoles [76] les thiadiazoles[77] ont été découverts et ont montré de bonnes capacités contre InhA.

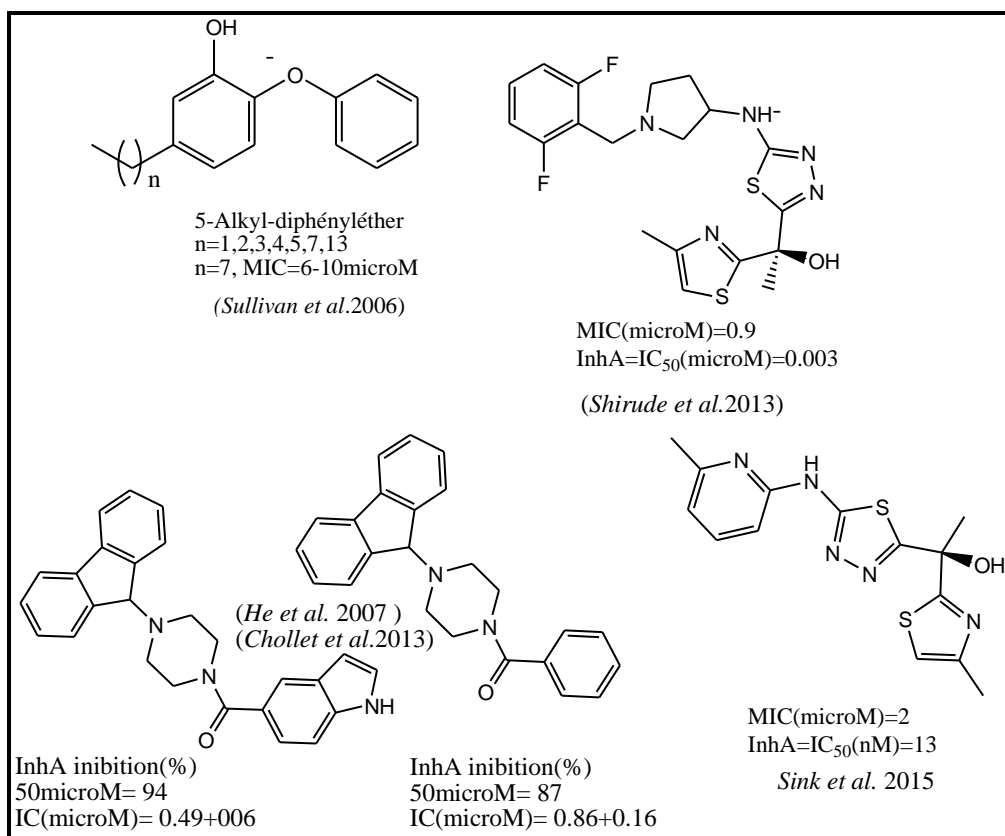
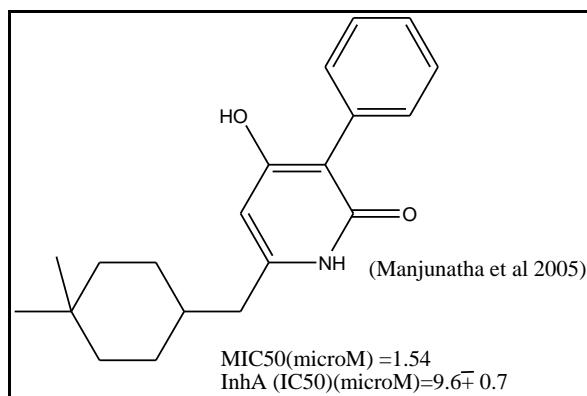


Figure IV-12 : Inhibiteurs montrants de bonnes capacités contre InhA.

Récemment, une nouvelle classe d'inhibiteurs directs de InhA, les 4-hydroxy-2-pyridones ont été identifiées par Novartis, a montré une bonne inhibition de InhA et une bonne efficacité *in vivo* dans des modèles de souris infectées par le M. tuberculosis [78]

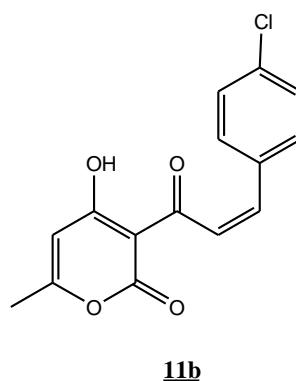
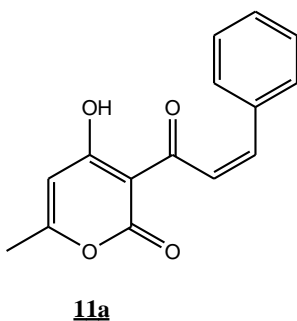
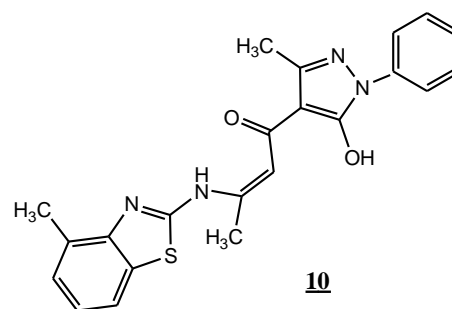
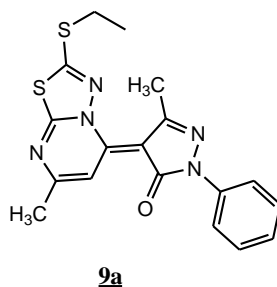
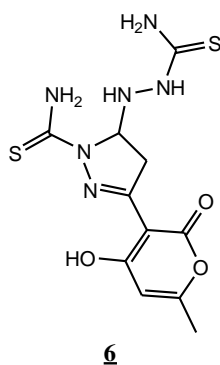
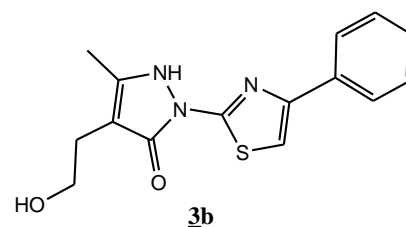
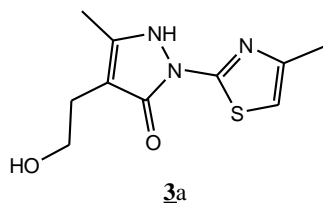
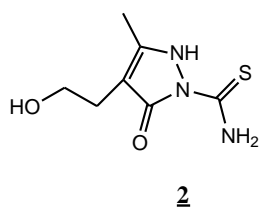


4-hydroxy-2-pyridones



## Résultats et discussions

Les composés illustrés ci-dessous, issus des deux séries de composés hétérocycliques dérivés de 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyran-2-one (DHA) et de la 2-acétylbutyrolactone synthétisées et caractérisées, ont été évalués en collaboration avec le Département de Biologie et de Biotechnologie Lazzaro Spallanzani Université de Pavia, Italie et Laboratoire de Synthèse et Physicochimie de Molécules d'Intérêt Biologique (SPCMIB) Université Paul Sabatier Toulouse, pour leurs activités contre la souche la plus virulente du *Mycobacterium tuberculosis* nommée H37Rv, puis en tant qu'inhibiteurs de l'InhA, enzyme clé impliquée dans la biosynthèse des acides mycolique de *M. tuberculosis*.



L'activité des composés synthétisés a été évaluée en déterminant à la fois l'inhibition de la croissance de *M. tuberculosis* (H37Rv) et l'inhibition de l'enzyme InhA, puis comparé à celle de l'isoniazide bien connu (INH), du GEQ et du Triclosan (TCL) utilisés comme références [40] (tableau IV-1)

Tableau IV- 1 Composés synthétisés testés comme agents inhibiteurs de la souche *M.de tuberculose* H37Rv et activités biologiques contre l'enzyme InhA

Composé	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )/( $\mu\text{M}$ )	% d'inhibition <sup>a</sup> d'InhA à 50 $\mu\text{M}$
<b><u>2</u></b>	2.5/12	0
<b><u>3a</u></b>	> 10/ >42	0
<b><u>3b</u></b>	5/16	0
<b><u>6</u></b>	10/29	26
<b><u>9a</u></b>	> 10/>26	13
<b><u>10</u></b>	>10/ >25	0
<b><u>11a</u></b>	10/39	19
<b><u>11b</u></b>	5/17	60
<b>TLC</b>	10/34.5	92
<b>GEQ</b>	20/50	89
<b>INH</b>	0.05/0.4	.....

a : Expériences réalisées à trois reprises

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées pour chaque produit et composés de référence. Parmi tous les composés évalués, des composés portant un fragment DHA ont montré CMI entre 17 et 44  $\mu\text{M}$  contre le M.tb H37Rv. Dans cette série, le composé **11b** portant un chlore sur le cycle phényle a été trouvé le plus actif, et pourrait raisonnablement servir de molécule principale pour le développement de médicament en faisant varier la fraction aryle.

Dans la série à partir du 2-acétyl butyrolactone, le pyrazolone **2** était le plus actif avec une CMI de 12  $\mu\text{M}$  et il pourrait également être utilisé comme plate-forme pour la dérivatisation. Ce composé possède différentes positions modifiables : l'alcool, l'amine et le thioamide sur l'anneau pyrazolique. En effet, les composés **3a** et **3b** synthétisés à partir du pyrazolone **2** ont également été évalués. Le composé **3a** porteur d'un groupement méthyle sur le thiazole a montré une perte d'activité antituberculeuse tandis que le composé **3b** porteur d'un groupement phényle s'est avéré plus intéressant, avec une CMI de 16  $\mu\text{M}$ .

Pour confirmer que l'enzyme InhA pourrait être la cible, des études d'inhibition enzymatique ont été réalisées. Les composés ont été testés pour leur capacité à inhiber la réduction de la double liaison du substrat DDCoA(*trans*-2-Dodecenoyl CoA) $\text{C}_{12}$ , par NADH en présence de InhA.

Parmi les inhibiteurs, les composés **2**, **3a**, **3b**, et **10** étaient totalement inactifs à 50  $\mu\text{M}$  contre l'enzyme InhA. Le manque d'inhibition de InhA pour les composés **2** et **3b**, contrairement aux faibles CMI, suggèrent que la cible n'est pas clairement l'InhA.

Les composés **11a**, **6**, et **9a** ont montré une faible activité contre InhA. C'est seulement le composé **11b** qui a montré la plus grande activité contre l'enzyme InhA. Il a été montré pour être trois fois plus actif que le composé **11a** non substitué par le chlore en position para.

## Conclusion

En conclusion, des composés synthétisés à partir de DHAet de la 2-acétylbutyrolactone ont été évalués comme médicaments antituberculeux contre la souche de *M. tuberculosis* H37Rv. Parmi eux, les composés **11b**, **2** et **3b** étaient les plus actifs avec des CMI d'environ 15  $\mu$ M. Les dérivés du DHA, en particulier le composé **11b**, inhibent l'enzyme InhA avec un taux d'inhibition de 60 d'InhA à 50  $\mu$ M.

Ce résultat est intéressant du fait qu'il pourrait donner un aperçu sur les tendances des approches structure-activité

Dans l'ensemble, nos résultats montrent que ces composés hautement riches en hétéroatomes pourraient constituer un point de départ pour une optimisation plus poussée.

## Partie expérimentale

### Matériels et méthodes (Essais biologiques)

#### *Tests in vitro:*

#### Conditions de croissance et inhibition minimale, détermination de la concentration (CMI)

*M. tuberculosis* H37Rv a été utilisé comme souche de référence. Les souches ont été cultivées à 37 ° C dans le bouillon *Middlebrook* 7H9 (*Difco*), additionné de 0,05% de Tween 80 ou dans un Milieu *Middlebrook* 7H11 (*Difco*) solide complété par de l'acide oléique-albumine-dextrose-catalase (OADC).

Les CMI pour les nouveaux composés ont été déterminés au moyen de la méthode de microdilutions. La dilution de *M. tuberculosis* de type sauvage (environ 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> CFU / ml) a été ensemencé sur milieu solide 7H11 contenant une gamme de concentrations de composés (de 0,25 µg / mL à 40 µg / mL). Les plaques ont été incubées à 37 ° C pendant environ 21 jours et la croissance a été évaluée visuellement. La dilution la plus faible de chaque composé à laquelle la croissance visible est inhibée a été prise comme la valeur CMI. Les résultats ont été exprimés en moyenne d'au moins trois déterminations indépendantes.

#### Inhibition de l'activité InhA

Des solutions mères de tous les composés ont été préparées dans du DMSO de telle sorte que la concentration finale de ce co-solvant soit constante à 5% v / v dans un volume final de 1 mL

Les tests cinétiques ont été effectués en utilisant le trans-2-dodécényl-coenzyme A (DDCoA) et l'InhA.

Les réactions ont été effectuées à 25 ° C dans un tampon aqueux (30 mM PIPES (Acide pipérazine-N,N'-bis-2-éthanesulfonique et 150 mM NaCl pH 6.8) contenant en outre le Cofacteur NADH 250 mM (NADH), substrat DDCoA 50 µM et le composé testé à 50 µM ou 10 µM). Les réactions ont été amorcées par l'ajout de l'InhA 100 nM final et l'oxydation NADH a été suivie à 340 nm. L'activité inhibitrice de chaque dérivé a été exprimée comme pourcentage d'inhibition de l'activité InhA (vitesse initiale de la réaction) par rapport à la réaction de contrôle sans inhibiteur

### InhA expression et purification

La production et la purification de la protéine InHA-6xHis à partir d'une souche de *E. coli* (BL21) déficiente en protéase transformée avec le plasmide pHAT5 / InhA a été réalisé comme suit :

1 mL de la suspension bactérienne a été ajoutée dans 100 ml de milieu LB (*Luria-Bertani*) contenant de l'ampicilline (100 mg / mL) et 2 % de glucose à 37 ° C. Après 4 h, la solution a été diluée dans 1L du même milieu et repoussé à 37 ° C. Dès que la concentration appropriée ( $DO_{595} = 0.6-0.8$ ) a été atteinte, la culture a été centrifugée à 3300 g pendant 10 min à 4 ° C puis le culot cellulaire est suspendu dans le milieu LB contenant de l'ampicilline à 100mg/mL.

L'expression protéique a été induite pour une incubation pendant une nuit dans 1 mM d'isopropyl-b-D-galactopyranoside (IPTG) à 20 ° C. Les cellules ont été récoltées. par centrifugation à 6000g pendant 30 min à 4 ° C. le culot cellulaire a été conservée à -80°C pendant plusieurs mois.

La purification a été effectuée à l'aide de la colonne d'affinité en utilisant une matrice de chromatographie d'affinité pour la purification de protéines de type Ni-NTA Argose de QIAGEN selon le protocole décrit par le fabricant.

La protéine recombinante purifiée a été soumise aux colonnes de dessalage de type PD-10 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) équilibré avec 30 Mm de PIPES pH 6,8 et 150 mM de NaCl pour éliminer l'imidazole.

Les échantillons ont été colorés par du bleu de *Coomassie* et analysés à l'aide d'une PAGE-SDS (sodium dodécyl sulfate polyacrylamide Gel Electrophorises), et maintenus à 4 ° C pour une conservation à court terme ou à -80 ° C avec 20 % de glycérine pour une conservation à long terme.

## Références bibliographiques

- [1] Bañuls, A.L., Sanou, A., Godreuil, S., *BIOFUTUR*. **2015**, 361, 36-37
- [2] Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde. **2017**, OMS
- [3] Nerlich, A.G., Haas, C.J., Zink, A., Szeimies, U., Hagedorn, H.G. *Lancet*. 1997, 350, 1404
- [4] Salo, W.L., Aufderheide, A.C., Buikstra J., Holcomb, T.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994, 91, 2091-2094.
- [5] Bariety, M. Un grand centenaire : Villemin et l'inoculabilité de la tuberculose. *Bull. Acad. Nat. Med.* 1965, 149, 761-767.
- [6] A royal gift of healing. *The New York Times*. **1879**, 26 octobre.
- [7] McCarthy, O., R., *J. R. Soc. Med.* **2001**, 94, 413-7.
- [8] Daniel, T. M. *Med.* **2006**, 100, 1862-1870.
- [9] Daniel, T. M., *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **2005**, 9, 1181-1182.
- [10] Daniel, T. M. Leon Charles Albert Calmette and BCG vaccine. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **2005**, 9, 944-945.
- [11] Alihalassa, S., 22e congrès de pneumologie de langue française — Lyon, 26—28 janvier **2018**
- [12] Boulahbib, S., article de presse ALG 24 du 22.mars **2018**
- [13] Russell, D. G., P. J. Cardona, et al., *Nat Immunol* .**2009**; 10(9): 943-8.
- [14] Rohde, K., R. M. Yates, et al., *Immunol Rev.* **2007**, 219: 37-54.
- [15] Saunders, B. M. and W. J. Britton, *Immunol Cell Biol.* **2007**, 85(2), 103-11.
- [16] Cambier, C.J, Falkow, S., Ramakrishnan, L., *Cell*. **2014**, 159, 1497-1509
- [17] Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L., Martin, L, *Introduction à la microbiologie 2ème édition.*; Pearson. **2012**
- [18] van Ingen, J., Rahim, Z.; Mulder, A., Boeree, M. J., Simeone, R., Brosch, R., van Soolingen, D. *Emerg. Infect. Dis.* **2012**, 18, 653-655.
- [19] Harshey, R. M., Ramakrishnan. T. *J Bacteriol.* **1977**; 129: 616-22.
- [20] KoumbaYoya, G., *thèse de doctorat.* **2010**
- [21] Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C, Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition. Paris: Elsevier Option Bio, **1994**.-3, 1756p
- [22] Tortoli E., *Clin Microbiol Rev.* **2003**, 16, 319-54.
- [23] Brock, T. D, Milestones in Microbiology. **1999**, 1546 to 1940, Amer Society for Microbiology.
- [24] Coico, R., *Curr Protoc Microbiol Appendix 3: Appendix 3C.* **2015**
- [25] Fu, L. M. and C. S. Fu-Liu, Tuberculosis, (Edinb). **2002** 82(2-3): 85-90.
- [26] BG. Metchnikoff, Manual of clinical microbiology. 7th edition. Washington DC: American society of microbiology. **2001**: 399-437. 17. ST.
- [27] Daffe, M, G. Etienne, *Tuber Lung Dis.* **1999**, 79(3): 153-69.
- [28] Brennan and Nikaido, *Rev Biochem.* **1995**, 64, 29-63
- [29] a) Alderwick, L. J., H. L. Birch, et al., *Biochem Soc Trans.* **2007**, 35(Pt 5), 1325-8.  
b) Zuber, B., M. Chami, et al, *J Bacteriol.* **2008**, 190(16), 5672-80
- [30] Sani, M., E. N. Houben, et al., *PLoS Pathog.* **2010**, 6(3): e1000794

- [31]Marrakchi, H., Bardou, F., Laneelle, MA., Daffe, M., *American Society for Microbiology*. **2008**, pp. 41–62.
- [32] Glickman, MS., Cox JS., Jacobs, WR., *Molecular Cell*. **2000**, 5(4):717–27.
- [33] Dubnau, E., Chan, J., Raynaud, C., et al., *MolecularMicrobiology*. **2000**, 36(3):630–7
- [34.] Takayama, K., Wang, C., Besra, G. S. ,*Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, 18, 81–101.
- [35] Marrakchi, H., Lanéelle, M.-A., Daffé, *Chem. Biol.* **2014**, 21, 67–85
- [36] Baulard, A. R., Besra, G. S., Brennan, P. J.,*Mycobacteria : molecular biology and virulence*. New York: Chapman and Hall. **1998**.
- [37] Jarlier, V., Nikaido H, *FEMS Microbiology Letters*. **1994**, 123(1-2):11–8.
- [38] Heath RJ, Rock CO;*Current Opinion in Investigational Drugs*. **2004**,5(2):146–53.
- [39] Lu H, Tonge PJ. , *Accounts of Chemical Research*. **2008**;41(1):11–20.
- [40] Chollet, A., Mourey, L., Lherbet, C., Delbot, A., Julien, S., Baltas, M.; Bernadou, J., Pratviel, G., Maveyraud, L., Bernardes-Génisson, *J. Struct. Biol.* **2015**,190, 328–337.
- [41] a) Quemard, A., Sacchettini, J. C., Dessen, A., Vilcheze, C., Bittman, R. *Biochemistry*, **1995**, 34, 8235-8241.(b)Vilchèze, C., Morbidoni, H. R., Weisbrod, T. R., Iwamoto, H., Kuo, M., Sacchettini, J C., Jacobs, W. R. *J. Bacteriol.* **2000**, 182,4059–67.
- [42] Otto Brändlia, G. Prod'homb, Thierry Rochatc, Jean-Pierre Zellwegerd*Forum Med Suisse*; **2003**; 21, p492-497
- [43] Rosset,G., Boisvert,J., truffot-Pernotc,T ,H. , *Bactériologie Médicale*.Flammarion ed, Paris, **1990**, pp 965-1017
- [44]Nolte,FS., Metchok.B., *Manual of Clinical Microbiology, 6th., Chapter 34*, American Society for microbiology ed, Washington DC. **1995**, pp 400-437.
- [45] Revue des Maladies RespiratoiresVol 20, N° 6-C2 - décembre,**2003**, pp 741
- [46] Kayantao, D., Maïga,I., Bougoudogo,F., PouabéTchameni.R., Koné,A., Diallo,S. , B. Sissoko,B., M'Baye,O. , Kéïta,B., *Bull Soc Pathol Exot.* **2001**, 94, 3, 243-245
- [47]Guillet-Caruba,C.,Martinez ,V.,Doucet-Populaire,F., *La Revue de Médecine Interne.* **2014**, 35(12), Pages 794-800
- [48] Delogu, G., Fadda, G, *J. Infect.Dev. Ctries.***2009**, 3, 5–15.
- [49]Dispositions du décret n° 69-88 du 17 juin **1969**, susvisé, de la république Algérienne démocratique et populaire.
- [50] Begue,P., *Bull. Acad. NatleMéd.* **2013**, 197, no 7, 1475-1484,
- [51] Banerjee, A., Dubnau, E., Quemard, A., Balasubramanian, V., Um, K. S. *Science* **1994**, 263, 227-230.
- [52] Suarez,J., Rangelova,K., Jarzecki,A., Manzerova, J., Krymov,V., Zhao, *Journal of B iological Chemistry.* **2008**; vol. 284, n° 11, pp. 7017-7029
- [53]a) Timmins,G.S., Maître,S., Rusnak, F., Deretic,V., *Agents and Chemotherapy antimicrobiens.***2004**, vol. 48, n ° 8, pp. 3006-3009, (b) Dessen, A., Quemard, A., Blanchard, J.S., Jacobs, W.R.Jr., Sacchettini, J.C. *Science*, **1995**, 267, 1638-1641.
- [54]Nitti, V., Catena, E., Ninni, A. and Di Filippo, A., *Arch Tisiol Mal ApparRespir.***1966**, 21(11): 867-910.
- [55] a) Wilkinson, R.G., Sheperd, R.G., Thomas, J.P., Baughan, C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 2212-2213.(b) Thomas, J.P., Baughn, C.O., Wilkinson, R.G., Sheperd, R.G. *Am. Rev. Respir. Dis.* **1961**, 83, 891-893.



- [56] Sacchettini, J. C., Rubin, E. J. and Freundlich, J. S, *Nature Reviews Microbiology*.**2008**, 6(1): 41-52.
- [57] Zhang, Y., Scorpio, A., Nikaido, H., Sun, Z. *J. Bacteriol.* **1999**, 181, 2044-2049.
- [58] Schatz, A., Bugie, E. and Waksman, S. A, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. **1944**, 55(1): 66-69.
- [59] Sharma, S. K. and Mohan, A., *Indian Journal of Medical Research*. **2004**, 120(4): 354-376.
- [60] Van Eldere, J., Multicentre, *J Antimicrob Chemother.* **2003**, 51: 347-352.
- [61] Palavecino E.: *Clin Lab Med.* **2004**, 24: 403-418
- [62] Verhaegen J., Van D.V, Verbiest, N., Van Eldere, J., Verbist L, *Clin Microbiol Infect.* **2000**, 6: 308-315
- [63] Mesaros, N.F., VanBamberk, G., Lupczynsky, Y.G., Vanhoof, R., Tulkens, P.M., *Louvain medical revue*.**2005**, 124, 8 : 308-320
- [64] a) Alekhun. M.N., Levy. S.B. ,*Cell.* **2007**, 128, 1037-1050. (b) Nikaido, *Annu. Rev. Biochem.*, **2009**, 78, 119-146.
- [65] Leclercq, R. , *Clin. Infect. Dis.* **2002**, 34, 482-492.
- [66] Muylaert, A., Mainil, J.G., *Ann. Méd. Vét.* **2012**, 156, 109- 123
- [67] Villemagne, B., Crauste, C., Flipo, M., Baulard, A. R., Déprez, B. and Willand, N. ,*Eur J Med Chem.***2012**, 51 , 1-16
- [68] Pan P, Tonge PJ, *Current Topics in Medicinal Chemistry*.**2012**, 12(7):672-93.
- [69] Heath RJ, Rock CO, *Nature*,**2000** ,406(6792):145-6.
- [70] J.Labordhèse, *de doctorat*, d'environ 0,5 µM **2017**
- [71] Freundlich JS, Wang F, Vilcheze C, et al., *ChemMedChem.* **2009**;4(2):241-8
- [72] Sullivan TJ, Truglio JJ, Boyne ME, Novichenok P, Zhang X, Stratton CF, Li H-J, Kaur T, Amin A, Johnson F, Slayden RA, Kisker C, Tonge PJ ;*ACS Chem Biol*;**2006** 1:43-53
- [73] Lu X.Y., Chen Y.D., Jiang Y.J., You Q. , *Eur J Med Chem*,**2009**, 44:3718-3730
- [74] Kuo, MR., Morbidoni, HR., Alland, D., Sneddon, SF., Gourlie, BB., Staveski, MM., Leonard, M., Gregory, JS., Janjigian, AD., Yee, C., Musser, J.M., Kreiswirth, B., Iwamoto, H., Perozzo, R., Jacobs, W.R., Sacchettini, J.C., Fidock, D.A. , *J Biol Chem*, **2007**, 278:20851-20859
- [75] He, X., Alian, A., Ortiz de Montellano, P.R., *BioorgMed Chem*,**2007**, 15:6649-6658
- [76] Shirude, P.S., Madhavapeddi, P., Naik, M., Murugan, K., Shinde, V., Nandishaiah R., Bhat, J., Kumar, A., Hameed, S., Holdgate, G., Davies, G., McMiken, H., Hegde, N., Ambady, A., Venkatraman, J., Panda, M., Bandodkar, B., Sambandamurthy, V.K., Read, J. *Methylthiazoles, Med Chem* , **2013**, 56:8533-8542
- [77] Sink, R., Sosič, I., Živec, M., Fernandez-Menendez, R., Turk, S., Pajk, S., Alvarez-Gomez, D., Lopez-Roman, E.M., Gonzales-Cortez, C., Rullas-Triconado, J., Angulo-Barturen, I., Barros, D., Ballell-Pages L., Young, R.J., Encinas, L., Gobec, S. , *J Med Chem.* **2015**, 58:613-624
- [78] Manjunatha, U.H., Rao, S.P.S., Kondreddi, R.R., Noble, C.G., Camacho, L.R., Tan. B.H., *SciTransl Med*.**2015**. 7:269 ra3

## Conclusion générale

## Conclusion générale

Ce travail avait pour objectif principal, l'élaboration de nouveaux hétérocycles à partir de lactones dont les potentialités synthétiques sont remarquables. La 2-acétylbutyrolactone et le DHA ont été utilisés dans ce but.

En nous basant sur des analogies structurales avec des séries de composés présentant des activités biologiques nous avons synthétisé des molécules hétérocycliques pouvant faire l'objet d'applications intéressantes.

Les résultats essentiels suivants ont été obtenus :

A partir de la 2-acétylbutyrolactone nous avons mis au point la synthèse d'une série de nouveaux composés de structure thiazolopyrazolones **3a-f** obtenus dans un premier temps par action de la thiosemicarbazide ce qui a permis l'accès à une structure pyrazolone **2** avec ouverture du cycle lactonique de la 2-acétyl butyrolactone, puis par la mise en réaction du pyrazole obtenu avec les  $\alpha$ -bromoacétophénones différemment substitués selon la stratégie de Hantzsch . Les thiazolopyraolones ont été obtenus avec de bons rendements variant de 57 à 87%. Les structures et mécanismes de formation de ces dérivés ont été décrits en détails.

A partir de l'acide déhydroacétique, nous avons synthétisé une variété de composés de structures différentes :

Nouveau pyrazole **6** obtenu à partir de cinammoyle de DHA en présence de la thiosemicarbazide dans des conditions simples avec un rendement modeste de 37%. L'analyse par RX a confirmé la présence de deux fragments thioamides rendant la structure très intéressante en vue de son évaluation biologique.

Dans le but d'introduction d'un noyau pyrimidine au  $\beta$ -diacétoacétylpyrazolone **8** obtenus par l'action de l'acide acétique sur une cétimine de DHA, nous avons obtenu :

D'une part, des structures condensées thiazolpyrimidinepyrazoles **9a-f** en présence du -2-amino-1,3,4-thiadiazole substitués. Les dérivés obtenus sont riches en structures de par leur variété de noyaux (pyrimidine, thiazole et pyrazolone) et offrent ainsi de plus grands potentiel quant à leur évaluation biologique.

D'autre part, l'action du 2-amino-4-méthyl-1,3-benzothiazole sur la  $\beta$ -diacétoacétylpyrazolone **8** dans les mêmes conditions opératoires n'a permis d'obtenir que la structure pyrazolone porteuse d'une fonction énaminone **10**.

Enfin, nous avons synthétisé une série de structures cinnamoyle de DHA **11a-d** à partir des benzaldéhydes différemment substitués selon un protocole décrit dans la littérature. Le choix de cette voie de synthèse s'est effectué sur la base de l'intérêt de ces types de structures en tant que pharmacophores potentiels.

Dans une approche pluridisciplinaire, l'activité de composés synthétisés a été évaluée en déterminant à la fois leur pouvoir inhibiteur sur la croissance de *M. tuberculosis* (H37Rv) et sur l'enzyme InhA ; les résultats suivants ont été obtenus :

Les composés obtenus à partir du DHA ont montré CMI entre 17 et 44  $\mu$ M contre le M.tb H37Rv. Dans cette série, le composé **11b** portant un chlore sur le cycle phényle a été trouvé le plus actif avec une CMI de 17  $\mu$ M.

Dans la série à partir de la 2-acétyl butyrolactone, la pyrazolone **2** était le plus actif avec une CMI de 12  $\mu$ M, le composé **3b** synthétisé à partir de la pyrazolone **2** porteur d'un groupement phényle s'est avéré aussi intéressant, avec une CMI de 16  $\mu$ M.

Par ailleurs, le composé **11b** a montré la plus grande activité contre l'enzyme InhA par inhibition directe de cette enzyme, avec un taux d'inhibition de 60% d'InhA à 50  $\mu$ M. Il a été démontré qu'il est trois fois plus actif que le composé **11a** non substitué par le chlore en position para. Ce qui donne un aperçu sur les tendances des approches structure-activité.

Le manque d'inhibition de InhA pour les composés **2** et **3b**, contrairement aux faibles CMI, suggèrent que la cible n'est pas clairement l'InhA.

Les résultats obtenus ont permis de faire un lien direct entre la synthèse d'hétérocycliques et leurs évaluations dans le cadre thérapeutique, axe majeur des préoccupations de notre laboratoire. Une large perspective de travaux à venir s'ouvre déjà dans les domaines chimique et biologique :

Dans le domaine chimique, trouver les conditions stœchiométriques idéales afin d'améliorer le rendement de la synthèse du pyrazole **6** et les conditions optimales permettant l'introduction du noyau pyrimidine sur le composé **8**.

Dans le domaine biologique, la prospection des modes d'action des composés présentant une faible CMI et étant inactif sur le InhA pourrait être très prometteuse.

## ملخص

استناداً إلى التشابهات البنوية مع سلسلة من المركبات التي تعرض أنشطة بيولوجية ، قمنا بتوليف جزيئات حلقة غير متجانسة يمكن استخدامها في تطبيقات جديدة بالاهتمام.

انطلاقاً من 2- الاستيل بوتيرولاكتون قمنا بحضير سلسلة جديدة من مركبات من النوع ثيازولوبيرازولون (thiazolopyraolone) .

أما من حمض الهيدروواستيك الثنائي ، قمنا بتصنيع مجموعة متنوعة من المركبات ذات هياكل مختلفة: - تم الحصول على بيرازول (pyrazole) جديد انطلاقاً من سناميل حمض الهيدروواستيك الثنائي ( de cinammoyl DHA )

- مركبات من نوع ثيازولوبيريبيدين بيرازول (thiazolpyrimidinepyrazoles) في وجود

2-amino1,3,4-thiadiazole مختلف الاستبدال. المركبات المحصل عليها غنية بالانوية (بيريبيدين، ثيازول وبيرازل

- أما تأثير 2-amino-4-méthyl-1,3- benzothiazole على  $\beta$ -diacetoacetyl pyrazolone سمح الحصول على بنية من النوع pyrazolone تحمل وظيفة anaminaminone

أخيراً ، قمنا بتوليف سلسلة من هياكل سناميل حمض الهيدروواستيك الثنائي وفقاً لبروتوكول موصوف في الأدبيات وذلك بحضور الديهيدات عطرية مختلفة الاستبدال .

في نهج متعدد التخصصات ، تم تقييم نشاط المركبات المصنعة من خلال تحديد كل من قدرتها المثبطة على نمو السل (H37Rv) وعلى الإنزيم InhA الانزيم المستهدف الأول للتحايل على مشكلة المقاومة المتعلقة بالمضادات الحيوية المعتادة

### الكلمات المفتاحية:

2- استيل بوتيرولاكتون- حمض الهيدروواستيك الثنائي – ثيازول- بيرازول- سنامويل حمض الهيدروواستيك الثنائي- نمو السل – الانزيم InhA

## Résumé

.En nous basant sur des analogies structurales avec des séries de composés présentant des activités biologiques nous avons synthétisé des molécules hétérocycliques pouvant faire l'objet d'applications intéressantes.

A partir de la 2-acétylbutyrolactone nous avons mis au point la synthèse d'une série de nouveaux composés de structure thiazolopyraolones

A partir de l'acide déhydroacétique, nous avons synthétisé une variété de composés de structures différentes .

-Nouveau pyrazole obtenu à partir de cinammoyl de DHA en présence de la thiosemicarbazide

-Des structures condensées thiazolpyrimidinepyrazoles en présence du 2-amino1,3,4-thiadiazole substitués les dérivés obtenus sont riches en structures de par leur variété de noyaux (pyrimidine, thiazole et pyrazolone )

-L'action du 2-amino-4-méthyl-1,3- benzothiazole sur  $\beta$ -diacétoacetylpyrazolone a permis d'obtenir que la structure pyrazolone porteuse d'une fonction ènamine

---

-Enfin nous avons synthétisé une série de structures cinnamoyle de DHA à partir des benzaldéhydes différemment substitués selon un protocole décrit dans la littérature.

**Mots clés :** 2-acétylbutyrolactone, DHA , thiazole, pyrazole, cinammoyl de DHA, *M. tuberculosis* , enzyme InhA.

## Abstract

Based on structural analogies with series of compounds exhibiting biological activities, we have synthesized heterocyclic molecules that can be used for interesting applications.

From 2-acetylbutyrolactone we have developed the synthesis of a series of novel thiazolopyraolone compounds

From dehydroacetic acid, we have synthesized a variety of compounds of different structures.

-New pyrazole obtained from cinnamoyl of DHA in the presence of thiosemicarbazide

-Condensed thiazolpyrimidinepyrazole structures in the presence of substituted 2-amino-1,3,4-thiadiazole The derivatives obtained are rich in structures by their variety of nuclei (pyrimidine, thiazole and pyrazolone)

-The action of 2-amino-4-methyl-1,3-benzothiazole on  $\beta$ -diacetoacetyl pyrazolone made it possible to obtain that the pyrazolone structure carrying an aminaminone function

-Finally, we have synthesized a series of Cinnamoyl structures of DHA from the benzaldehydes differently substituted according to a protocol described in the literature.

In a multidisciplinary approach, the activity of synthesized compounds was evaluated by determining both their inhibitory capacity on the growth of *M. tuberculosis* (H37Rv) and on the enzyme InhA a preferred target enzyme so as to circumvent the resistance problem. related to conventional antibiotics.