

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant, de nous avoir donné la santé, la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de thermodynamique et au laboratoire de physique et chimie des matériaux LPCM de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, sous la direction de Madame **IGHILHRIZ Karima** maître de conférences classe B à la Faculté des Sciences de l'UMMTO, que je remercie chaleureusement de m'avoir encadré, avec beaucoup de compétence, d'enthousiasme et de disponibilité, de gentillesse, de sérieux, son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques, pour la confiance qu'elle m'a accordé pour réaliser ce travail.

Je remercie très sincèrement Madame **BENAZZOZ Amina** maître de conférences classe B à la Faculté des Sciences de l'UMMTO de m'avoir Co-encadré, pour sa disponibilité, sa gentillesse, son soutien et pour l'aide qu'elle m'a apporté et de m'avoir orienté tout au long de ce travail.

Mes remerciements les plus respectueux vont aussi à Madame **KICHOU Nora** maître de conférences classe A à l'université de Tizi-Ouzou, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Je voudrai adresser mes vifs remerciements également à Madame **HIKEM Djamila**, maître de conférences classe A à l'université de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent aussi aux techniciennes du laboratoire pédagogique de thermodynamique pour leurs gentillesse et leurs disponibilités au laboratoire.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents.

A ma sœur.

A toute la famille NEGROUCHE.

A mes amis.

SOMMAIRE

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

CHAPITRE I : Partie bibliographique

1. Pyrazoles	3
1.1 Intérêts des pyrazoles	4
1.2 Dérivés pyrazolique.....	4
1.3 Synthèse des pyrazoles.....	6
1.3.1 Cyclocondensation de l'hydrazine et ses dérivés avec des systèmes carbonylés.	6
1.3.2 Réaction des dérivés d'hydrazine avec un dérivé 1,3 dicarboxylé.....	7
2. Coumarines	8
2.1 Activité biologique des coumarines	9
2.2 Différentes méthodes de synthèse des coumarines	10
2.2.1 Synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel	10
2.3 Synthèse des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine.....	11
2.3.1 Mécanisme de la réaction de Knoevenagel	11

CHAPITRE II: Synthèse des 3-(3-méthyl-1*H*-pyrazol-5-yl)chromen-2(2*H*)-ones

1. Synthèse des 3-(3-méthyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)chromen-2(2 <i>H</i>)-ones	14
1.1 Introduction	14
1.2 Synthèse des 3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-2 <i>H</i> -chromen-2-ones.....	14
1.2.1 Etude par chromatographie sur couche mince des composés 3a-f	15
1.2.2 Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés 3b-e	16
1.2.3 Etude par spectroscopie infrarouge des composés 3b, d-f	17
1.3 Synthèse des 3-méthyl-5-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)-1 <i>H</i> -pyrazole-1-carbothioamide	18

1.3.1	Etude par chromatographie sur couche mince des composés 5a-c	19
1.3.2	Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés 5a-c	19
1.3.3	Etude par spectroscopie infrarouge des composés 5b-c	20
1.4	Synthèse des 3-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-2 <i>H</i> -chromen-2-one	21
1.4.1	Etude par chromatographie sur couche mince des composés 7a-c	22
1.4.2	Analyse par spectroscopie UV /Visible des composés 7a et 7c	22
1.4.3	Etude par spectroscopie infrarouge du composé 7c	23
1.5	Synthèse des <i>N</i> -(2-(3-méthyl-5-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)-1 <i>H</i> -pyrazole-1-carbonyl) phenyl)benzamide.....	24
1.5.1	Etude par chromatographie sur couche mince des composés 9a-c	25
1.5.2	Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés 9a-c	25
1.5.3	Etude par spectroscopie infrarouge des composés 9a-c	26
1.6	Mécanisme.....	27
1.7	Conclusion.....	28
2.	Appareillage et technique d'analyse	29
2.1	Point de fusion.....	29
2.2	Chromatographie sur couche mince (CCM)	29
2.3	Spectroscopie UV/Visible	29
2.4	Réactifs.....	29
3.	Manipulations	30
3.1	Synthèse des 3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-2 <i>H</i> -chromen- 2-one.....	30
3.2	Synthèse des 3-méthyl-5-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)-1 <i>H</i> -pyrazole-1- carbothioamide.....	32
3.3	Synthèse des 3-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-2 <i>H</i> -chromen-2-one.....	33
3.4	Synthèse des <i>N</i> -(2-(3-méthyl-5-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)-1 <i>H</i> -pyrazole-1- carbonyl)phenyl)benzamide.....	34

CHAPITRE III: Activité antioxydante

1. Activité antioxydante	37
1.1 Introduction	37
1.2 Oxydation.....	37
1.3 Stress oxydatif	37
1.4 Radicaux libres.....	37
1.5 Antioxydants	38
1.6 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	39
1.7 Mode opératoire.....	40
2. Résultats et discussions	41
2.1 Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC 50.....	43
Conclusion et perspectives.....	45

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure I.1 : Structure moléculaire du pyrazole.

Figure I.2 : Formes tautomériques du pyrazole.

Figure I.3 : Structure du célécoxib.

Figure I.4 : Structure du fomépizole.

Figure I.5 : Structure du Rimonabant.

Figure I.6 : Structure du sildénafil.

Figure I.7 : Condensation des dérivés de l'hydrazine avec les carbonyles.

Figure I.8 : Cyclocondensation des composés 1,3-dicarbonylés avec les dérivés de l'hydrazine

Figure I.9 : Mécanisme d'accès au pyrazole.

Figure I.10 : Médicaments comportant le motif coumarinique.

Figure I.11 : Différentes voies de synthèse des coumarines.

Figure I.12 : Synthèse de la coumarine à partir de la réaction de Knoevenagel.

Figure I.13 : Synthèse des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine.

Figure I.14 : Mécanisme de synthèse des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine.

Figure II.1 : Réaction des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine avec la 2-hydroxybenzohydrazide.

Figure II.2 : Spectre UV/Visible du composé **3d**.

Figure II.3 : Spectre infrarouge du composé **3b**.

Figure II.4 : Réaction des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine avec l'hydrazinecarbothioamide.

Figure II.5 : Spectre UV/Visible du composé **5c**.

Figure II.6 : Spectre infrarouge du composé **5b**.

Figure II.7 : Réaction des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine avec l'isonicotinohydrazide.

Figure II.8 : Spectre UV/Visible du composé **7c**.

Figure II.9 : Spectre infrarouge du composé **7c**.

Figure II.10 : Réaction des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine avec *N*-(2(hydrazinecarbonyl)phenyl)benzamide.

Figure II.11 : Spectre UV/Visible du composé **9b**.

Figure II.12 : Spectre infrarouge du composé **9b**.

Figure II.13 : Mécanisme de synthèse des 3-(3-méthyl-1*H*-pyrazol-5-yl) chromen-2(2*H*)-ones.

Figure III.1 : Structure de la Vitamine E (tocophérols, tocotriénols) et l'acide ascorbique.

Figure III.2 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.

Figure III.3 : Molécules sélectionnées pour évaluer leur activité antioxydante.

Figure III.4 : Absorbance en fonction de la Concentration [C] des produits testés.

Figure III.5 : Valeurs des IC₅₀% des composés **3b-e**, **7a**, **7c** et l'acide ascorbique.

Figure III.6 : Pourcentage de capture du radical DPPH des composés **3b-e**, **7a**, **7c** et l'acide ascorbique en fonction de la concentration.

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Rendements, temps et points de fusion des composés **3a-f**.

Tableau II.2 : Rapports frontaux des composés **3a-f**.

Tableau II.3 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **3b-e**.

Tableau II.4 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR des composés **3b, 3d-f**.

Tableau II.5 : Rendements, temps et points de fusion des composés **5a-c**.

Tableau II.6 : Rapports frontaux des composés **5a-c**.

Tableau II.7 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **5a-c**.

Tableau II.8 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR des composés **5b-c**.

Tableau II.9 : Rendements, temps et points de fusion des composés **7a-c**.

Tableau II.10 : Rapports frontaux des composés **7a-c**.

Tableau II.11 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **7a et 7c**.

Tableau II.12 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR du composé **7c**.

Tableau II.13 : Rendements, temps et points de fusion des composés **9a-c**.

Tableau II.14 : Rapports frontaux des composés **9a-c**.

Tableau II.15 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **9a-c**.

Tableau II.16 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR du composé **9a-c**.

Tableau III.1 : Activité antioxydante (%) évaluée par le radical DPPH des composés **3b-e, 7a** et **7c**.

Tableau III.2 : Valeurs de IC 50 des produits **3b-e, 7a et 7c**.

Liste des abréviations

ADH : l'alcool déshydrogénase.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

cGMP : cyclo guanosine monophosphate.

COX-2 : Cyclooxygénase de type 2.

%CR : Pourcentage de capture des radicaux.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl.

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

FAP : Polypose Adénomateuse Familiale.

Hcl : Acide chlorhydrique

IR : Infrarouge.

PDE5 : Phosphodiesterase de type 5.

Pf : Point de fusion.

Rf : Rapport frontal.

TAL : Acide Triacétique Lactone.

UV : Ultraviolet.

Introduction générale

Les hétérocycles sont des composés chimiques très intéressants dans les recherches scientifiques en raison de leurs potentialités d'application dans différents domaines. En effet, les composés hétérocycliques comportant des hétéroatomes comme l'azote, soufre et l'oxygène sont également présents dans plusieurs structures douées d'activité biologique et pharmacologique très intéressante, on les retrouve dans de nombreux composés herbicides, fongicides et insecticides et même dans l'agrochimie et dans les composés destinés à la protection des métaux contre la corrosion. Par ailleurs, les travaux réalisés sur l'élaboration et l'étude des propriétés des hétérocycles de type pyrazoles, thiazoles, thiadiazoles, oxadiazoles et autres ont donné jusque-là des résultats prometteurs. Donc, c'est dans ce sens de la recherche que l'on peut situer notre travail à savoir, la synthèse et la caractérisation de nouveaux dérivés de coumarine et pyrazole qui peuvent être utilisés plus tard dans divers domaines, notamment comme composés biologiquement actifs ou même dans le domaine de l'inhibition de la corrosion des métaux.

Dans ce contexte, nous portons dans notre travail une étude de la réactivité des composés 1,3 dicarbonylés, en plus particulier les dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine vis-à-vis des binucléophiles dérivés de l'hydrazine (la thiosemicarbazide, l'isoniazide, la 2 hydroxybenzohydrazide et la *N*-(2-(hydrazinecarbonyl)phenyl)benzamide).

Le manuscrit s'articule autour de trois chapitres :

Le premier chapitre du manuscrit porte sur la mise au point bibliographique sur les pyrazoles et les coumarines (synthèses et activités biologiques).

Le deuxième chapitre illustre la synthèse de la 3-(3-méthyl-1*H*-pyrazol-5-yl)chromen-2(2*H*)-one et ses dérivés à partir d'une condensation de la 3-acétoacétylcoumarine avec les dérivés de l'hydrazine en présence de l'acide chlorhydrique sous agitation à reflux.

Le troisième chapitre porte sur l'étude de l'activité antioxydante de quelques produits synthétisés en utilisant la méthode de réduction du radical DPPH.

Enfin, nous terminerons par une conclusion générale.

CHAPITRE I

1. Pyrazoles

Les pyrazoles sont des hétérocycles à cinq chaînons qui constituent une classe de composés particulièrement utiles en synthèse organique [1]. Ils contiennent deux atomes d'azote adjacents en positions 1 et 2, l'un est fondamental et l'autre est de nature neutre [2] (Figure I.1).

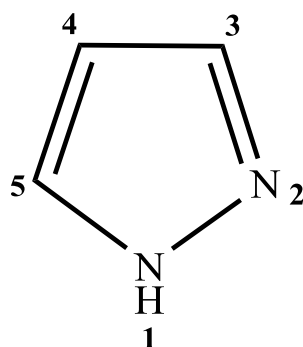


Figure I.1 : Structure du pyrazole.

Le terme « pyrazole » a été donné par Ludwig Knorr en 1883. Knorr a été en mesure de synthétiser le premier dérivé de pyrazole à partir de 3-oxobutanoate et de phénylhydrazone. Plus tard en 1887, la structure de ce composé a été déterminée comme étant le 3-méthyl-1-phényl-1*H*-pyrazol-5-ol) [3].

En général, les pyrazoles peuvent être dessinés sous trois formes tautomères : 1*H*-pyrazole ayant un caractère aromatique, les 3*H* et 4*H*-pyrazoles sont des hétérocycles non aromatiques (figure I.2) [3].

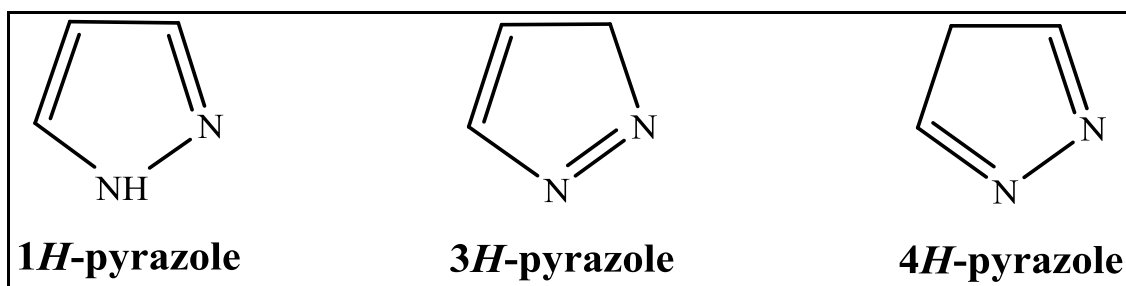


Figure I.2 : Formes tautomériques du pyrazole.

1.1 Intérêts des pyrazoles

De nombreuses propriétés biologiques des pyrazoles ont été rapportées, notamment anti-inflammatoire, antiviral, antimicrobien, anticonvulsivant, antitumoral, activités fongicides, antihistaminique [4], antioxydant [5], anti hypertenseur et antidiabétique [6].

En plus de leurs activités, les pyrazoles sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique et la chimie médicinale, noyaux importants dans les produits naturels. En outre, les pyrazoles peuvent agir en tant qu'inhibiteurs de la kinase dans le traitement du diabète de type 2 et de l'obésité, des agents mimétiques de la thromboprotéine et des agents antiangiogéniques. En outre, certains pyrazoles sont utilisés dans la chimie des polymères et des polymères supramoléculaires, dans l'industrie alimentaire et en tant que stabilisants ultraviolets et colorants cosmétiques. En conséquence, les chimistes ont examiné la synthèse de nouveaux dérivés du pyrazole et l'analyse de leurs activités biologiques [7].

1.2 Dérivés pyrazolique

Les dérivés du pyrazole représentent l'une des classes de composés les plus actives et possèdent un large spectre d'activités biologiques. Ces dernières années, plusieurs médicaments à partir de dérivés du pyrazole ont été mis au point. Parmi ces dérivés, nous citerons quelques exemples :

Célécoxib : Le célécoxib (figure I.3) est un Anti Inflammatoire Non Stéroïdien utilisé dans le traitement de l'arthrose, de la polyarthrite rhumatoïde, des menstruations douloureuses, de la douleur aiguë et des symptômes menstruels, ainsi que pour réduire le nombre de polypes du côlon et du rectum chez les patients atteints de polypose adénomateuse familiale (FAP), il est utilisé aussi comme un inhibiteur de la cyclooxygénase de type 2 (COX-2) [8].

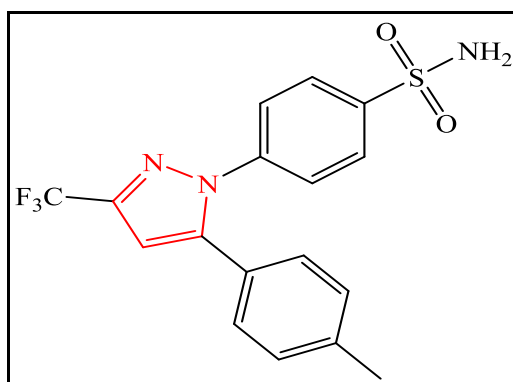


Figure I.3 : Structure du célécoxib.

Fomépipazole : Le fomépizole (4-méthylpyrazole, figure I.4) est utilisé comme antidote à l'intoxication au méthanol ou à l'éthylène glycol en agissant en tant qu'inhibiteur compétitif de l'alcool déshydrogénase (ADH). L'ADH catalyse la production de métabolites toxiques par oxydation du méthanol ou de l'éthylène glycol [9].

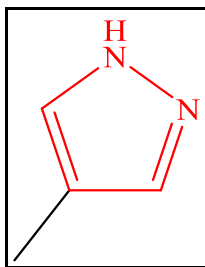


Figure I.4 : Structure du fomépizole

Rimonabant : Rimonabant (Figure I.5) agit comme un agoniste inverse sélectif sur le récepteur CB1 (CB $\frac{1}{2}$ cannabinoïde) et présente un noyau pyrazole totalement substitué. Le médicament a été commercialisé en 2006 par Sanofi-Aventis en tant que médicament anorectique pour la réduction de la masse corporelle, mais il a été retiré par la suite en raison de graves problèmes psychiatriques. Le Surinabant, un dérivé du bromo très similaire, fait actuellement l'objet d'essais cliniques afin de contribuer à l'arrêt du tabac et à la lutte contre l'obésité [3].

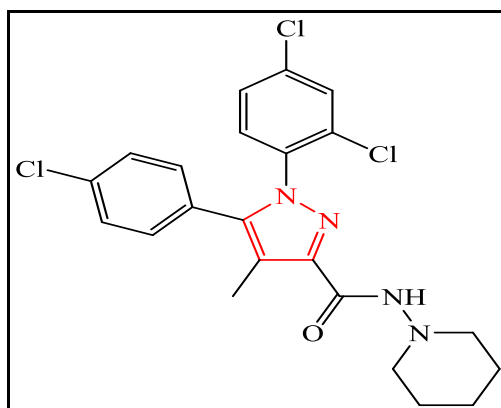


Figure I.5: Structure du Rimonabant

Sildénafil : Contrairement à tout autre médicament, le sildénafil (figure I.6) commercialisé en 1998 par Pfizer sous le nom de marque « Viagra » est l'un des médicaments les plus populaires de notre époque. Par inhibition de l'enzyme phosphodiesterase de type 5 (PDE5) dégradant le

GMPc, les niveaux intracellulaires du cGMP du second messager sont augmentés, ce qui entraîne un relâchement des muscles lisses dans la paroi de certains vaisseaux sanguins [8].

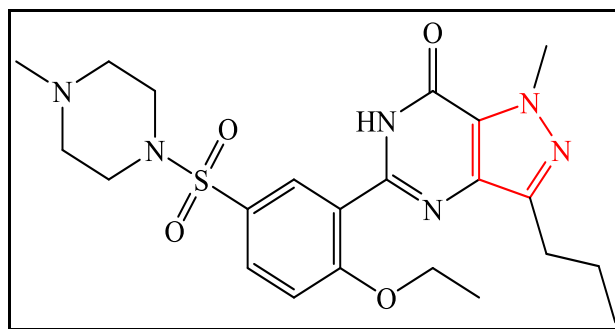


Figure I.6 : Structure du sildénafil

1.3 Synthèse des pyrazoles

Jusqu'à présent, plusieurs approches ont été développées et examinées pour synthétiser des pyrazoles à partir de différents matériaux de départ. De nombreuses stratégies ont été établies pour maîtriser les principaux défis de la synthèse de ce système hétérocyclique.

L'une des approches les plus générales de synthèse du noyau pyrazole est la réaction de cyclocondensation entre une hydrazine et un système carbonyle [10].

1.3.1 Cyclocondensation de l'hydrazine et ses dérivés avec des systèmes carbonyles

La méthode la plus utilisée pour obtenir les pyrazoles substitués consiste en une réaction de cyclocondensation entre une hydrazine ou thiosemicarbazide appropriés jouant le rôle du nucléophile et une unité carbonée présentant deux carbones électrophiles en position 1 et 3 comme un dérivé 1,3-dicarbonylé **A** ou une cétone α , β -insaturée **B**, **C** et **D** (figure I.7).

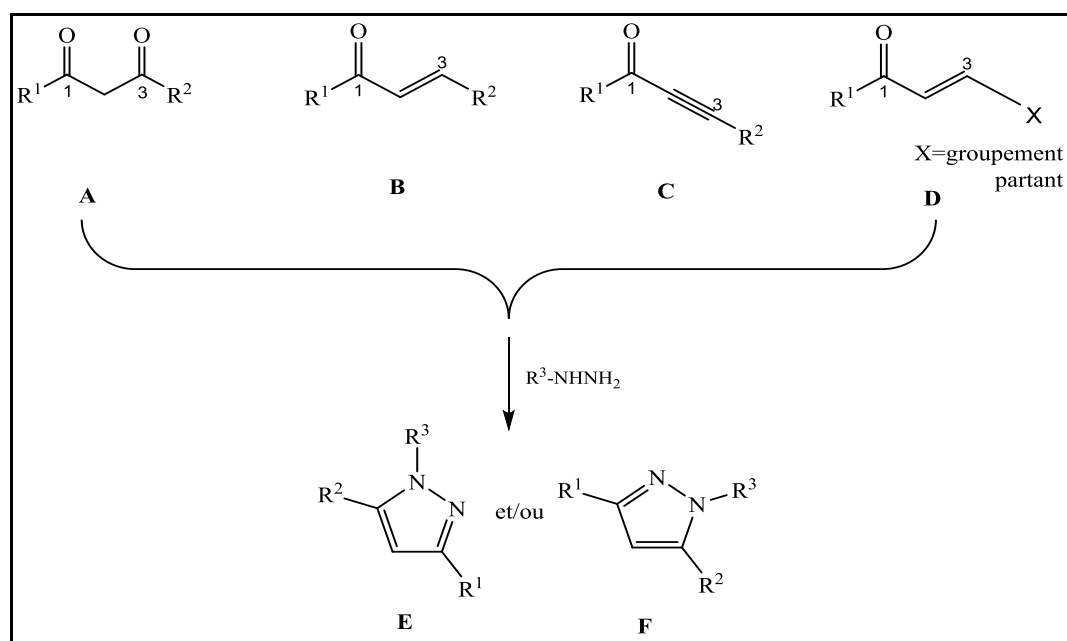


Figure I.7 : Condensation des dérivés de l'hydrazine avec les carbonyles.

Lors de l'utilisation des substrats asymétriques ayant deux centres électrophiles tels que **A**, **B**, **C**, **D** de la figure ($R^1 \neq R^2$), des mélanges de régioisomères **E** et **F** sont souvent obtenus dans des réactions avec des hydrazines substituées ($R^3 \neq H$). Toutefois, lorsque ($R^3 = H$), un réarrangement rend le pyrazoles **E** équivalent à **F** [11].

De nombreux facteurs structuraux et expérimentaux sont impliqués dans la formation sélective de l'un des deux composés isomères. Une autre difficulté réside dans l'attribution de la structure correcte aux pyrazoles obtenus. Dans de nombreuses expériences, la structure des produits n'a pas été établie ; dans certains cas, elle a été attribuée sans preuves expérimentales définitives et dans quelques exemples elle a été établie sur la base d'expériences expérimentales plus ou moins rigoureuses [10]. Nous dans notre travail, nous intéresserons sur la réaction d'une hydrazine avec le composé **A** (1,3 dicarboxylé).

1.3.2 Réaction des dérivés d'hydrazine avec un dérivé 1,3-dicarboxylé

La cyclocondensation des composés 1,3-dicarboxylés avec les dérivés de l'hydrazine est une approche simple et rapide pour obtenir des pyrazoles polysubstitués. Cette méthode développée par **Knorr** à la fin du 19^{ème} siècle aboutit généralement en présence des substrats 1,3-dicarboxylés non symétriques à la formation de deux régioisomères difficilement séparable (figure I.8).

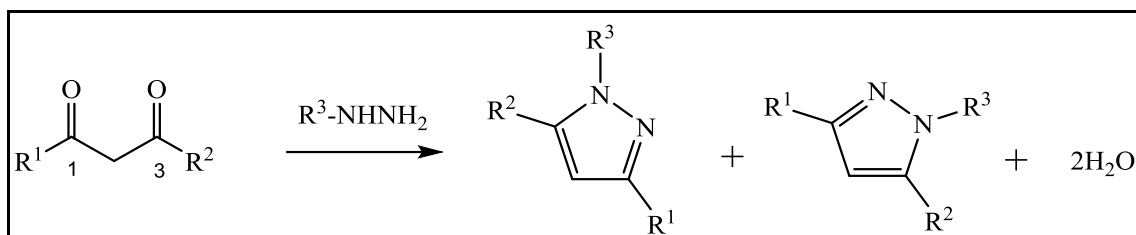


Figure I.8 : cyclocondensation des composés 1,3-dicarbonylés avec les dérivés de l'hydrazine.

Le mécanisme de la réaction passe d'abord par la formation d'une imine suivie d'une cyclisation intramoléculaire déshydratante pour former le pyrazole [12].

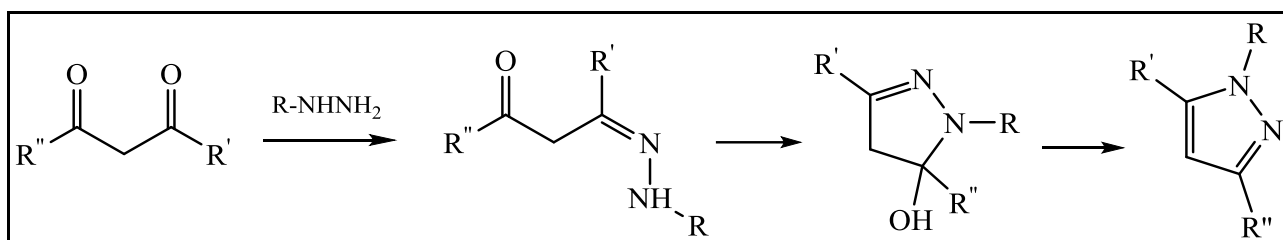
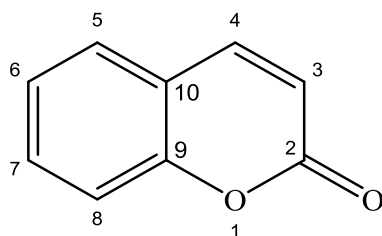


Figure I.9 : Mécanisme d'accès au pyrazole.

2. Coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique de formule brute C₉H₆O₂, connue dans la nomenclature internationale comme : 1-benzopyran-2-one ou 1,2-benzopyrone (α benzopyrone) [13].



La molécule mère de la coumarine a été isolée pour la première fois par Vogel en 1820 à partir de fèves tonka. Elle a ensuite été synthétisée en 1868 par Perkin. Le nom coumarine vient de *kumarù* qui est le nom, dans une langue amérindienne, de l'arbre de Tonka dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine.

Les coumarines sont des composés très importants car beaucoup existent à l'état naturel. Elles existent dans divers végétaux, telles les aspérules, les racines des flouves, les tiges feuillées des mélilots. Elles sont également présentes dans le miel, le thé vert, la cannelle, etc... [13, 14].

2.1 Activité biologique des coumarines

Les coumarines constituent une classe importante d'agents pharmacologiques possédant une gamme d'activités physiologiques différentes, notamment anti-cancer, antioxydant, anti-inflammatoire, anti-VIH, anticoagulant, antibactérien, analgésique et antihypertenseur [15].

En plus de leurs activités, les coumarines ont de nombreuses utilisations dans l'industrie, principalement en raison de leur forte odeur parfumée. Elles sont notamment utilisées comme édulcorant et fixateur de parfum, comme activateur d'huiles naturelles telles que la lavande, comme additif alimentaire associé à la vanilline, comme stabilisateur des saveurs dans les tabacs et comme masquant d'odeur dans les peintures et les gommages [16].

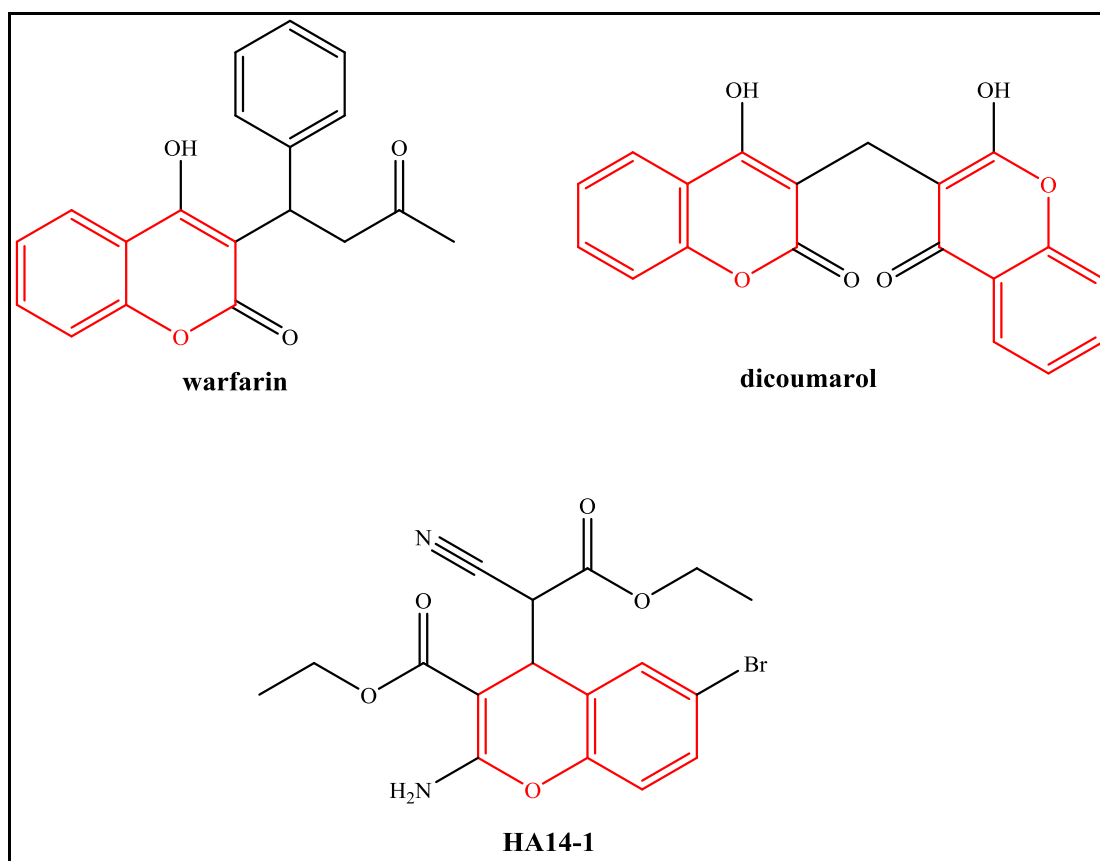


Figure I.10 : Médicaments comportant le motif coumarinique.

2.2 Différentes méthodes de synthèse des coumarines

Il existe plusieurs réactions qui permettent d'accéder à de nombreux composés à structure de coumarine (figure I.11), nous pouvons citer :

- La réaction de Pechmann
- La réaction de Perkin
- La réaction de Wittig
- La réaction de Knoevenagel
- La réaction de Reformatsky [17].

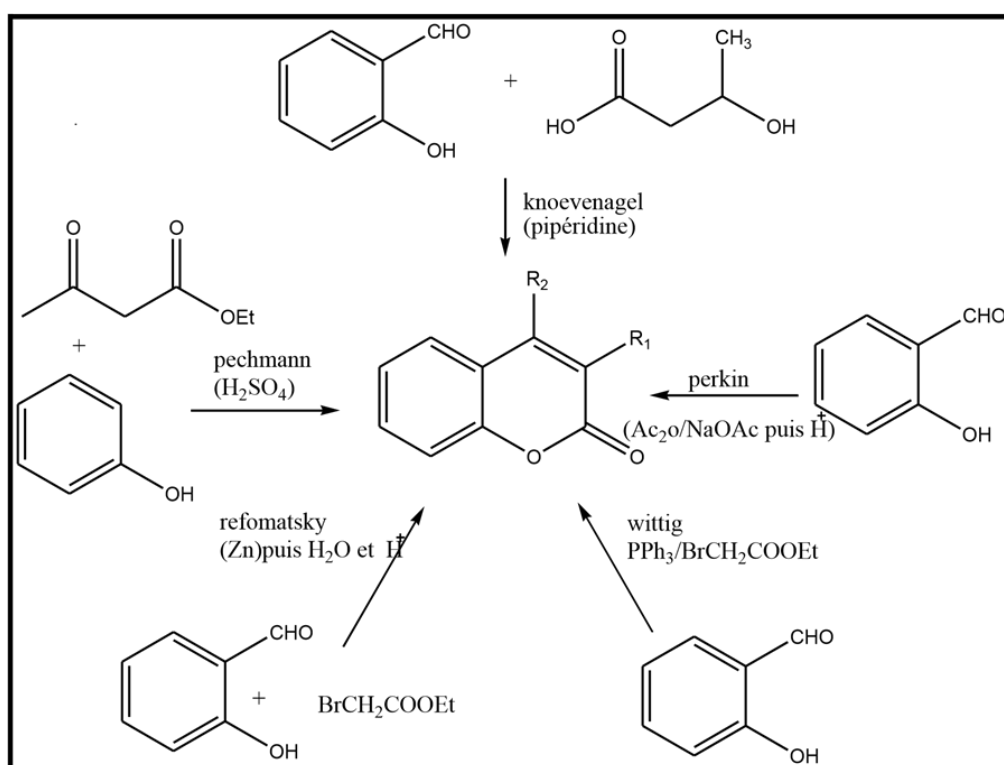


Figure I.11 : Différentes voies de synthèse des coumarines [18].

2.2.1 Synthèse des coumarines par la réaction de Knoevenagel

La réaction (ou condensation) de Knoevenagel est parmi les méthodes les plus utilisées pour la synthèse des doubles liaisons. Ce type de réaction se produit entre un aldéhyde et un composé à méthylène actif : l'acide malonique ou un ester de l'acide malonique, nécessitant la présence d'une base faible comme catalyseur. Elle donne des composés α, β insaturés par déshydratation intramoléculaire [18].

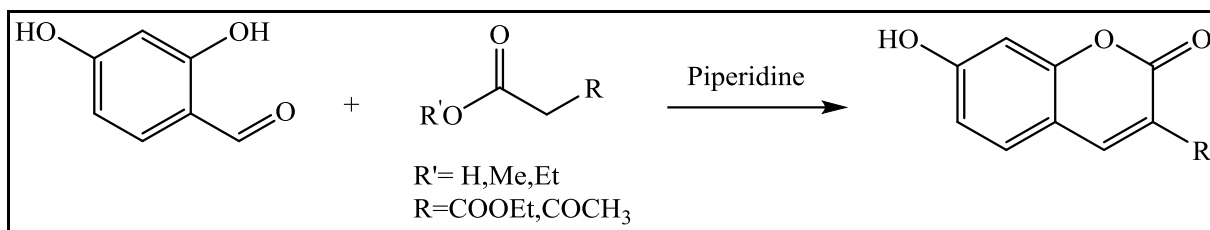


Figure I.12 : Synthèse de la coumarine à partir de la réaction de Knoevenagel.

2.3 Synthèse des dérivés 3-acétoacétylcoumarine

Les dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine sont obtenus à partir des aldéhydes aromatiques 2-hydroxylés et de la 4-hydroxy-6-méthyl-2*H*-pyran-2-one (acide triacétique lactone notée TAL) via la condensation de Knoevenagel. La réaction est réalisée en utilisant de la pipéridine dans l'éthanol sous irradiation par micro-ondes (figure I.13) [19]. Ces composés sont des éléments clés, car ils contiennent un noyau coumarinique ainsi que le groupe méthylène actif du groupement acétoacétyle, qui est sujette à subir des transformations chimiques plus utiles.

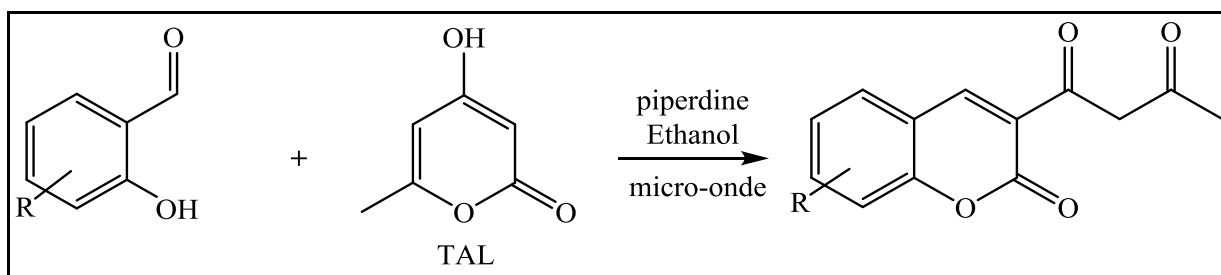


Figure I.13 : Synthèse des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine.

Les dérivés de la 3-acétoacétylcoumarines nous ont servis comme matière première essentielle pour la préparation des nouveaux produits.

2.3.1 Mécanisme de la réaction de Knoevenagel

Le mécanisme suivant favorise la formation des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine. Premièrement, une condensation de Knoevenagel de pyranone avec des salicylaldehydes pourrait donner l'intermédiaire 3-salicylidépyrane-2,4-dione (**A**). Celle-ci pourrait ensuite subir une translactonisation intramoléculaire par une attaque nucléophile du groupe phénol sur le groupe lactone-carbonyle pour donner l'intermédiaire (**B**). Cela pourrait également conduire à une réaction d'ouverture du cycle de l'unité pyranone dans **B**, entraînant la formation des dérivés 3-acétoacétylcoumarine [20].

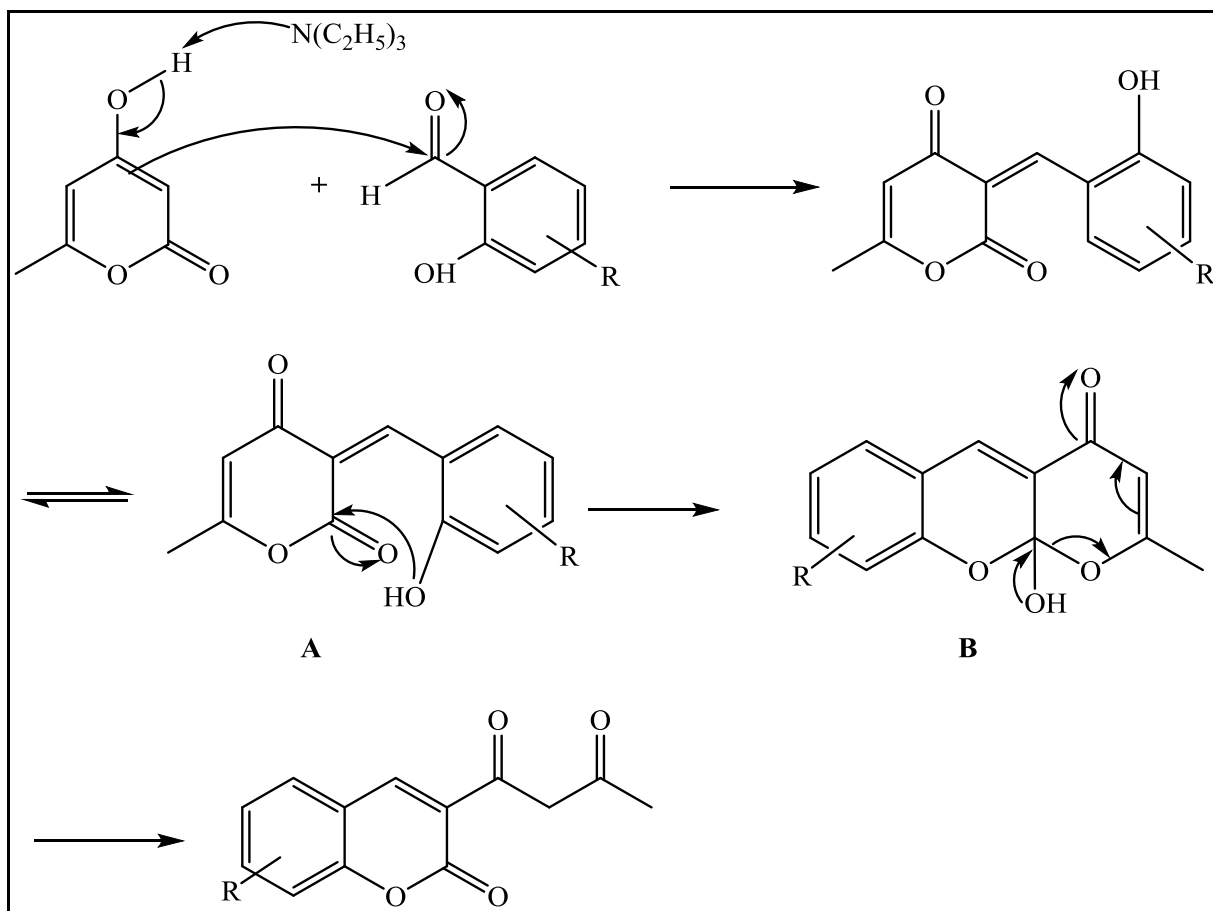


Figure I.14 : Mécanisme de synthèse des dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine [20].

CHAPITRE II

1. Synthèse des dérivés de la 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones

1.1 Introduction

En 2006, Z. N. Siddiqui et M. Asad ont synthétisé des 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones à partir de la 3-acétoacétylcoumarine avec un excès d'un binucléophile (l'hydrazine et phenylhydrazine), dans l'acide acétique à reflux [21]. Dans le cadre de notre travail, nous avons remplacé ces binucléophiles par des hydrazines non décrites dans la littérature avec une nouvelle méthode.

1.2 Synthèse des 3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-ones (3a-f)

Nous avons fait réagir la 3-acétoacétylcoumarine et ses dérivées en quantité équimolaire avec la 2-hydroxybenzohydrazide en présence de l'acide chlorhydrique. Les mélanges réactionnels sont ensuite portés sous agitation à reflux d'éthanol pendant plusieurs heures. Les résultats sont regroupés dans le tableau II.1.

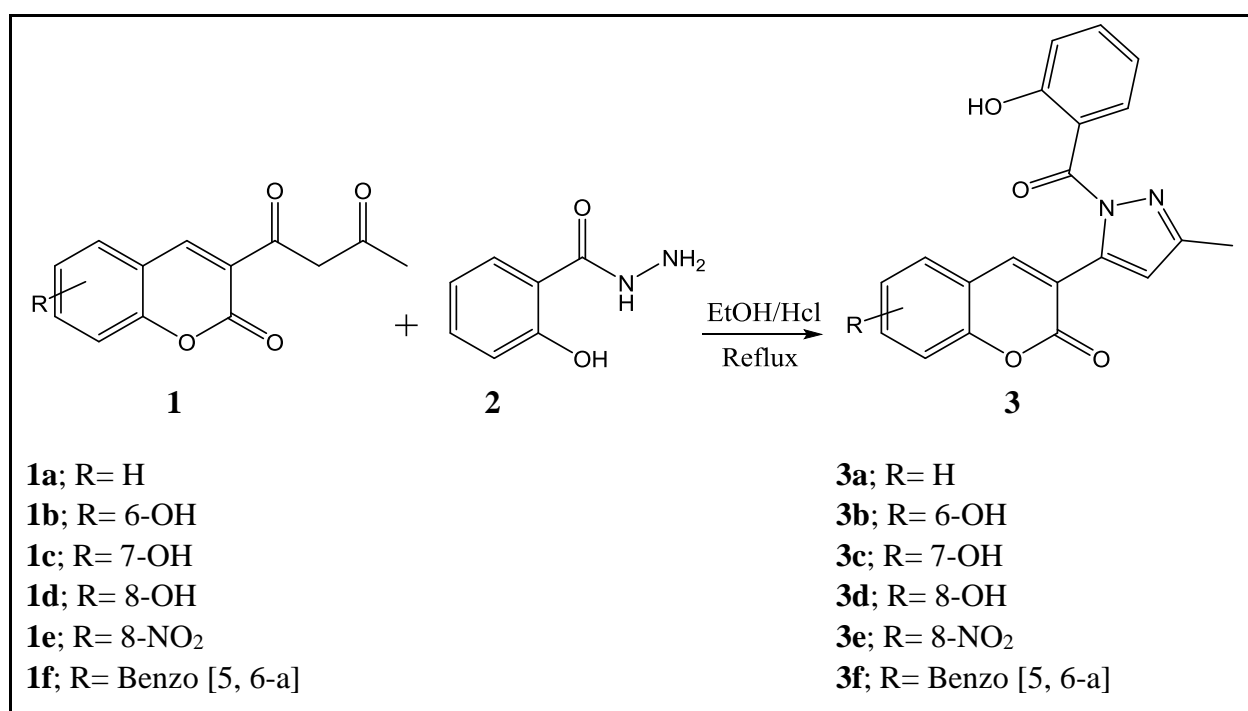


Figure II.1: Réaction des dérivés de la 3-acétoacétyl coumarine avec la 2-hydroxybenzohydrazide.

Le tableau II.1 regroupe le temps de la réaction, les points de fusion des composés obtenus.

Tableau II.1: Rendements, temps et points de fusion des composés **3a-f**

Composé	Temps	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
3a	6h30min	47	260
3b	10h	46	245
3c	2h45min	58	250
3d	12h35min	58	278
3e	18h	62	165
3f	15h50min	42	240

D'après le tableau on peut conclure que les rendements des 3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-ones **3a-f** obtenus à partir de la 2-hydroxybenzohydrazide varient de 42 à 62%. Nous remarquons, que ces rendements sont influencés par la nature du substituant électro donneur ou électro attracteur sur la 3-acétoacétylcoumarine. En effet, la présence d'un groupement attracteur (NO₂) sur la 3-acétoacétylcoumarine augmente son caractère électrophile (rendement 62%). Cependant, nous observons également que le plus faible rendement a été obtenu avec le composé **3f**, cela est dû probablement à l'encombrement stérique du groupement phényle.

1.2.1 Etude par chromatographie sur couche mince des composés **3a-f**

La pureté des composés **3a-f** a été contrôlée par CCM en utilisant des plaques en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F254 (phase stationnaire) et une phase mobile ou éluant (3ml de chloroforme / 3 gouttes de méthanol). On a constaté la présence d'une seule tache dont les R_f obtenus sont donnés par la relation suivante:

$$R_f = \frac{\text{Distance parcouru par le composé}}{\text{Distance parcouru par l'éluant}}$$

Tableau II.2. Rapports frontaux des composés **3a-f**.

Composé	Rf
3a	0,81
3b	0,59
3c	0,67
3d	0,63
3e	0,70
3f	0,60

1.2.2 Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés **3b-e**

Les spectres d'absorption UV-Visible des composés **3b-e** réalisés dans le DMSO, montrent une longueur d'onde d'absorption correspondant au groupement C=O de la coumarine qui apparaît habituellement entre 259 et 260 nm et d'autres bandes allant de 303-363 nm qui peuvent être attribuées aux transitions π - π^* . Les résultats de la spectrophotométrie UV-Visible (en nm) sont reportés dans le tableau II.3.

Tableau II.3: Résultats du spectre UV/Visible des composés **3b-e**.

Composé	λ (nm)	Attribution
3b	320	$\pi \rightarrow \pi^*$
	363	$\pi \rightarrow \pi^*$
3c	260	$n \rightarrow \pi^*$
	359	$\pi \rightarrow \pi^*$
3d	259	$n \rightarrow \pi^*$
	334	$\pi \rightarrow \pi^*$
3e	303	$\pi \rightarrow \pi^*$

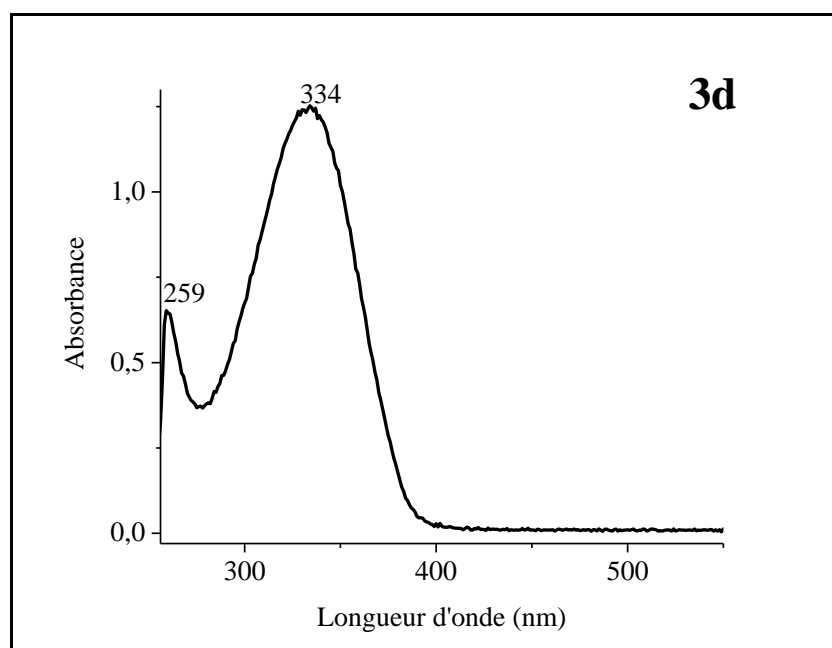


Figure II.2 : Spectre UV/Visible du composé **3d**.

1.2.3 Etude par spectroscopie infrarouge des composés **3b**, **d-f**

Le tableau II.4 regroupe les fréquences des bandes de vibrations des différentes fonctions caractéristiques des composés **3b**, **d-f** en pastille dans le KBr.

Les différentes bandes de vibration IR des composés **3b**, **d-f** montrent l'apparition des bandes caractéristiques : ν C=O et ν C=N à 1707-1730 cm^{-1} et 1600-1660 cm^{-1} respectivement.

Tableau II.4 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR des composés **3b**, **3d-f**.

Composé	ν C=O (cm^{-1})	ν C-N (cm^{-1})	ν C=N (cm^{-1})	ν O-H (cm^{-1})	ν N-O (cm^{-1})
3b	1707	1310	1620	-	-
3d	1713	1360	1620	3132	-
3e	1740	1350	1660	-	1535
3f	1730	1360	1600	-	-

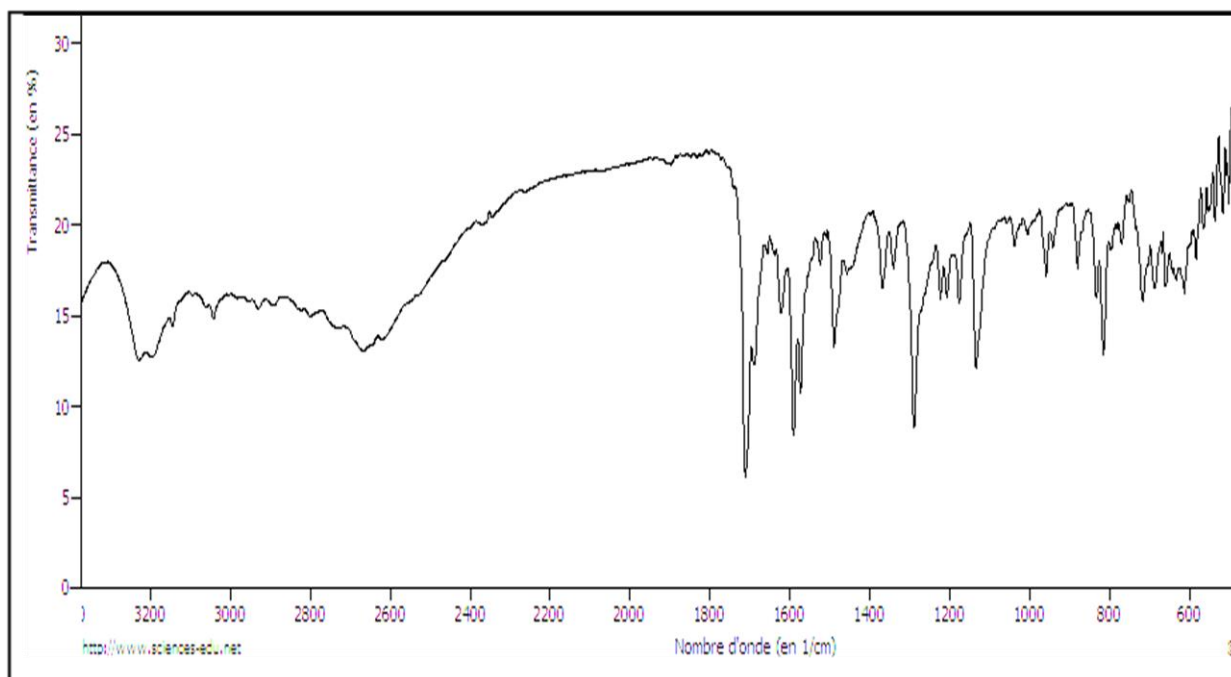


Figure II.3 : Spectre infrarouge du composé **3b**.

1.3 Synthèse des 3-méthyl-5-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-1H-pyrazole-1-carbothioamides

Afin de compléter la série de la 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones et ses dérivés, nous avons fait réagir la thiosemicarbazide non étudiée dans la littérature sur une série de 3-acétoacétylcoumarine. La réaction a été réalisée sous agitation à reflux d'éthanol en présence d'une quantité catalytique d'acide chlorhydrique pendant quelques heures. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau II.5.

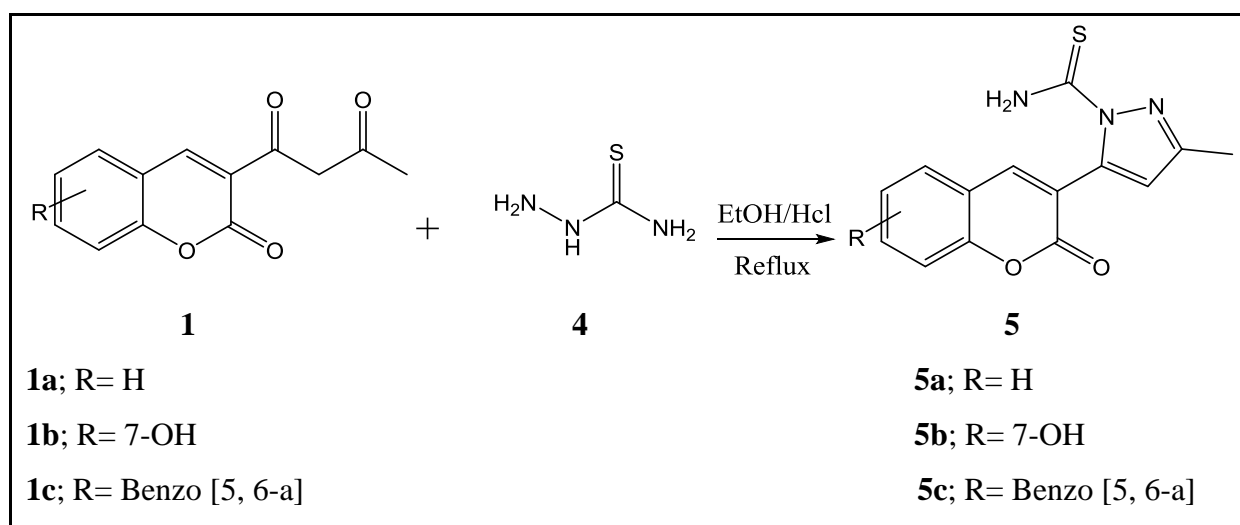


Figure II.4: Réaction des dérivés 3-acétoacétylcoumarine avec l'hydrazinecarbothioamide.

Tableau II.5 : Rendements, temps et points de fusion des composés **5a-c**

Composé	Temps	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
5a	5h	46	176
5b	4h20min	56	288
5c	3h40min	81	267

1.3.1 Etude par chromatographie sur couche mince des composés **5a-c**

La pureté de chaque composé obtenu est confirmée par la CCM en utilisant comme éluant un mélange de solvant chloroforme/méthanol (3ml/3 gouttes). Nous avons obtenu une seule tache différente de celles des produits de départ **1**. Les rapports frontaux sont mentionnés dans le tableau II.6.

Tableau II.6 : Rapports frontaux des composés **5a-c**.

Composé	Rf
5a	0,35
5b	0,49
5c	0,61

1.3.2 Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés

Le tableau II.7 représente les longueurs d'ondes des bandes d'absorption UV/Visible des trois produits **5a-c** dissous dans le DMSO.

Tableau II.7 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **5a-c**.

Composé	λ (nm)	Attribution
5a	261	$n \rightarrow \pi^*$
	306	$\pi \rightarrow \pi^*$
	379	$\pi \rightarrow \pi^*$
5b	360	$\pi \rightarrow \pi^*$
5c	261	$n \rightarrow \pi^*$
	336	$\pi \rightarrow \pi^*$

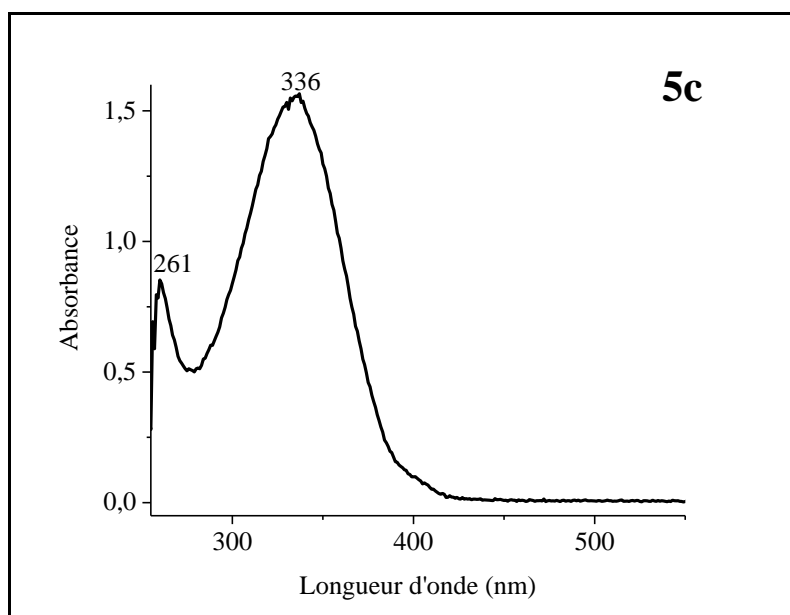


Figure II.5 : Spectre UV/Visible du composé **5c**.

1.3.3 Etude par spectroscopie infrarouge des composés

Les spectres IR des composés **5b** et **5c** révèlent l'apparition de deux bandes d'allongement, qui sont attribuées aux vibrations caractéristiques: ν C=O et ν C=N, enregistrées à 1714-1736 cm^{-1} et 1610 cm^{-1} respectivement.

Tableau II.8 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR des composés **5b-c**.

Composé	ν C=O (cm^{-1})	ν C=N (cm^{-1})	ν C-N (cm^{-1})	ν O-H (cm^{-1})
5b	1714	1610	1331	3131
5c	1736	1610	1250	-

Chapitre II Synthèse des 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones

Tableau II.9 : Rendements, temps et points de fusion des composés **7a-c**

Composé	Temps	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
7a	13h30min	60	120
7b	5h55min	49	230
7c	10h	42	245

Les résultats montrent que les rendements des produits **7a-c** varient entre 42-60%. Le plus faible rendement est obtenu avec le composé **7c** cela est dû à l'encombrement stérique des groupements phényles.

1.4.1 Etude par chromatographie sur couche mince des composés **7a-c**

La pureté de chaque composé obtenu est confirmée par la CCM en utilisant comme éluant un mélange de solvant chloroforme/méthanol (3ml/3 gouttes). Nous avons obtenu une seule tache différente de celles des produits de départ (dérivés de la 3-acétoacétylcoumarine). Les rapports frontaux sont donnés dans le tableau II.10.

Tableau II.10 : Rapports frontaux des composés **7a-c**.

Composé	Rf
7a	0,71
7b	0,58
7c	0,55

1.4.2 Analyse par spectroscopie UV/Visible des composés **7a** et **7c**

Le tableau II.11 représente les longueurs d'ondes des bandes d'absorption dans le spectre UV/Visible des produits **7a** et **7c** dissous dans le DMSO. Le spectre UV/Visible confirme la structure de ces composés par l'apparition de deux bandes à 269-279 nm et à 320-381 nm qui sont attribuées à la transition $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$.

Tableau II.11 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **7a** et **7c**.

Composé	λ (nm)	Attribution
7a	279	$n \rightarrow \pi^*$
	320	$\pi \rightarrow \pi^*$
7c	269	$n \rightarrow \pi^*$
	381	$\pi \rightarrow \pi^*$

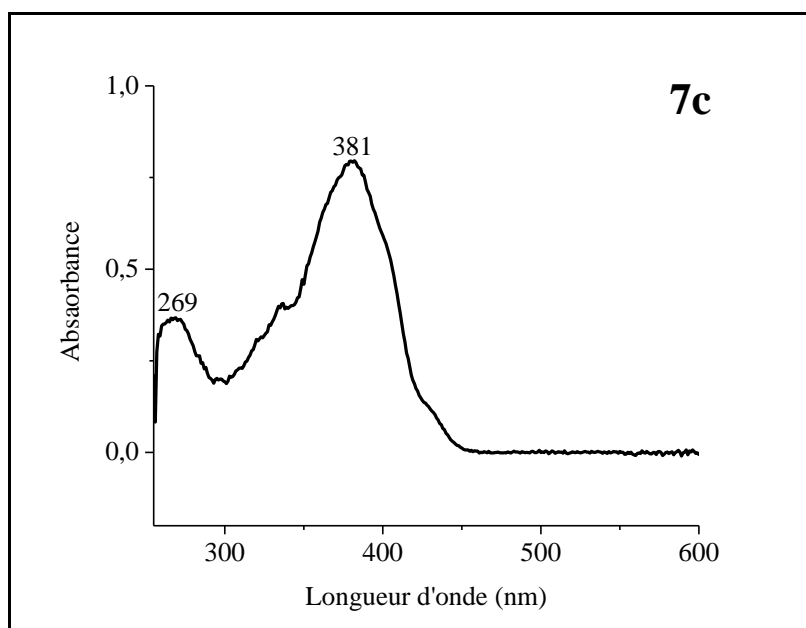


Figure II.8 : Spectre UV/Visible du composé 7c.

1.4.3 Etude par spectroscopie infrarouge du composé 7c

Le tableau II.12 regroupe les fréquences des bandes de vibrations des différentes fonctions du composé 7c. Les différentes bandes de vibration IR du composé 7c montrent l'apparition de deux bandes caractéristiques : ν C=O à 1723 cm^{-1} et ν C=N à 1605 cm^{-1} .

Tableau II.12 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR du composé 7c.

Composé	ν C=O (cm^{-1})	ν C=N (cm^{-1})	ν C-N (cm^{-1})	ν O-H (cm^{-1})
7c	1723	1605	1250	-

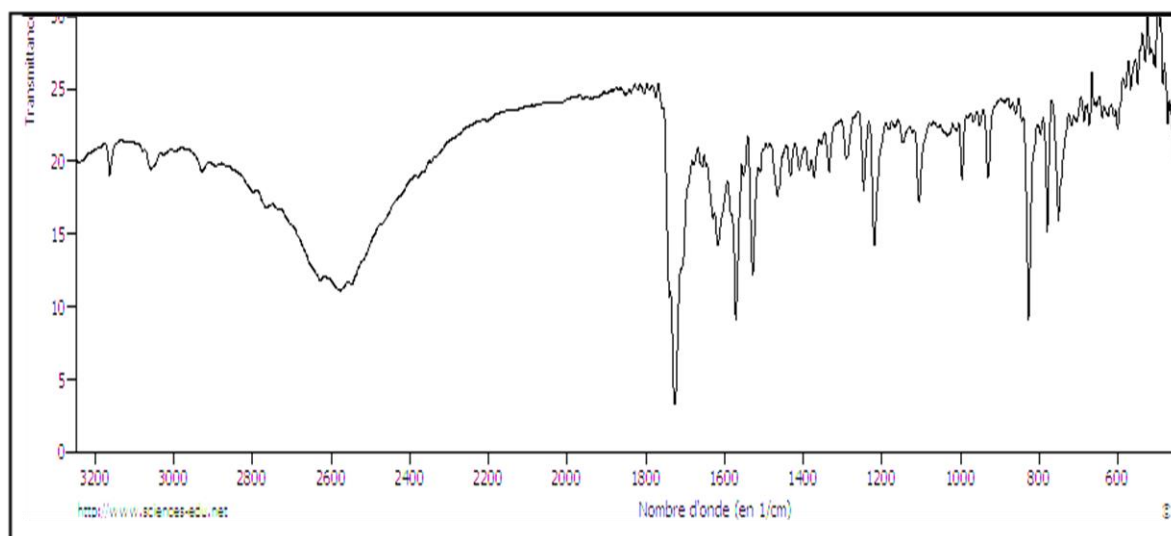


Figure II.9 : Spectre infrarouge du composé **7c**.

1.5 Synthèse des *N*-(2-(3-méthyl-5-(2-oxo-2*H*-chromen-3-yl)-1*H*-pyrazole-1-carbonyl)phenyl)benzamide (**9a-c**)

Nous avons utilisé le même mode opératoire de la réaction 1 (figure II.1) pour avoir les trois produits **9a-c**, c'est-à-dire nous avons fait réagir le mélange équimolaire de 3-acétoacétylcoumarine et la *N*-(2-(hydrazinecarbonyl)phenyl)benzamide. Le mélange est porté au reflux pendant quelques heures et le produit final est séparé avec une simple filtration.

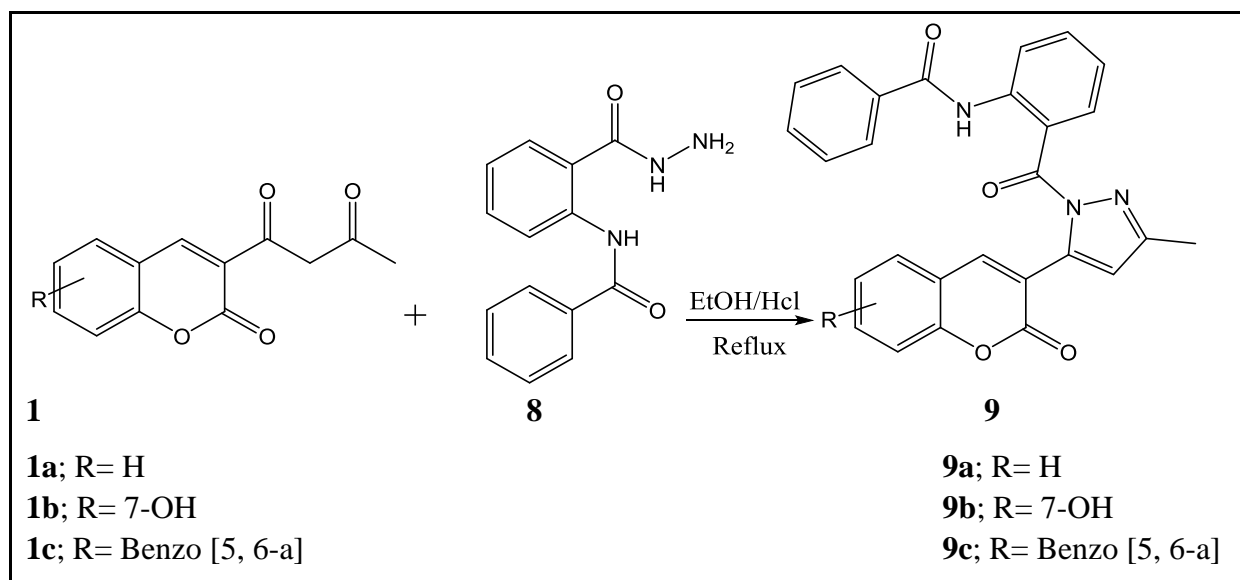


Figure II.10: Réaction des dérivés 3-acétoacétylcoumarine avec *N*-(2-(hydrazinecarbonyl)phenyl)benzamide.

Chapitre II Synthèse des 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones

Tableau II.13 : Temps de réaction et rendement des produits **9a-c**.

Composé	Temps	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
9a	2h	73	184
9b	6h30min	65	165
9c	22h	50	225

Il ressort de ce tableau que le meilleur rendement est obtenu avec le composé **9a** contrairement au composé **9c** (73 % contre 50%), cela est dû à l'encombrement stérique des groupements phényles.

1.5.1 Etude par chromatographie sur couche mince des composés **9a-c**

La pureté de chaque composé obtenu est confirmée par la CCM en utilisant comme éluant un mélange de solvant chloroforme/méthanol (3ml/3 gouttes). Nous avons obtenu une seule tache différente de celles des produits de départ Les rapports frontaux sont rapportés dans le tableau II.14.

Tableau II.14 : Rapports frontaux des composés **9a-c**.

Composé	Rf
9a	0,77
9b	0,48
9c	0,25

1.5.2 Analyse par spectroscopie UV / Visible des composés **9a-c**

L'étude UV/Visible a été menée dans le DMSO. Les principales bandes d'absorption détectées sur les spectres UV/Visible sont récapitulées dans le tableau II.15.

Tableau II.15 : Résultats du spectre UV/Visible des composés **9a-c**.

Composé	λ (nm)	Attribution
9a	275	$n \rightarrow \pi^*$
	319	$\pi \rightarrow \pi^*$
9b	267	$n \rightarrow \pi^*$
	314	$\pi \rightarrow \pi^*$
	388	$\pi \rightarrow \pi^*$
9c	271	$n \rightarrow \pi^*$
	315	$\pi \rightarrow \pi^*$
	378	$\pi \rightarrow \pi^*$

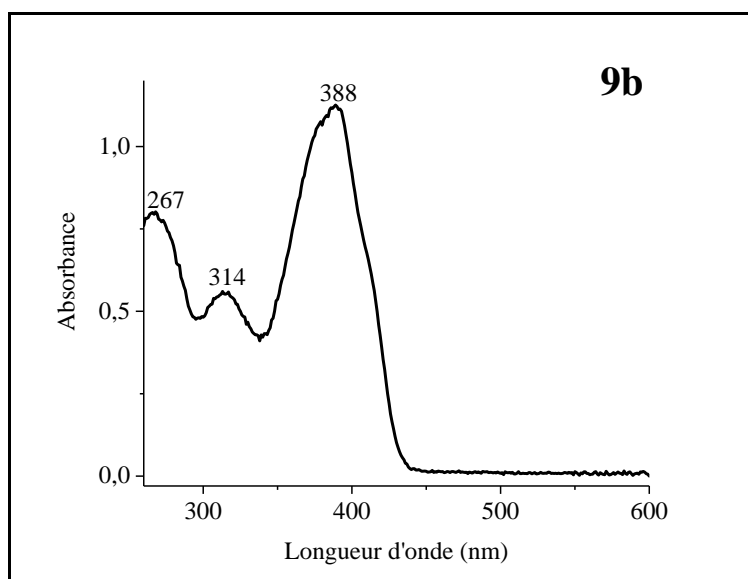


Figure II.11 : Spectre UV/Visible du composé **9b**.

1.5.3 Etude par spectroscopie infrarouge des composés

La spectroscopie IR nous a permis d'identifier les fréquences de vibrations des liaisons des différentes fonctions organiques des composés **9a-c** (tableau II.16).

Tableau II.16 : Fréquences des différentes bandes de vibration IR des composés **9a-c**.

Composé	ν C=O (cm^{-1})	ν C=N (cm^{-1})	ν C-N (cm^{-1})	ν O-H (cm^{-1})
9a	1723	1610	1310	-
9b	1714	1607	1310	3400
9c	1708	1600	1320	-

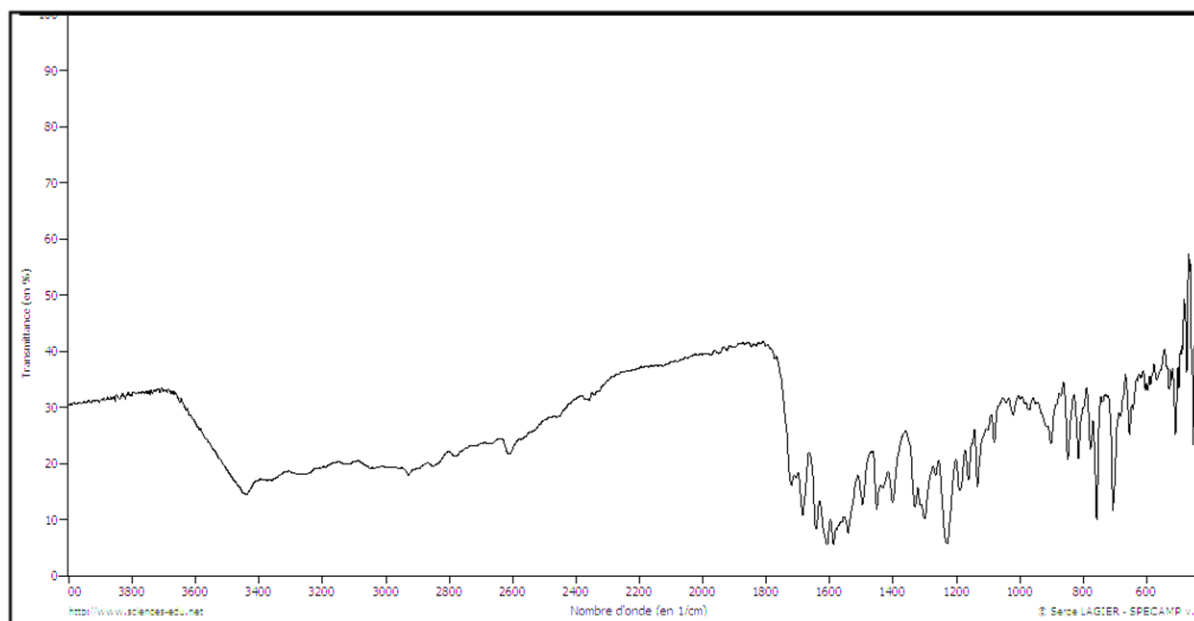


Figure II.12 : Spectre infrarouge du composé **9b**.

1.6 Mécanisme

Le mécanisme réactionnel de la formation des composés: **3a-f**, **5a-c**, **7a-c** et **9a-c**, se fait en deux étapes principales:

- La première étape concerne l'attaque nucléophile de l'amine sur le groupement carbonyle qui est protoné pour donner un intermédiaire avec le départ d'une molécule d'eau et formation de la fonction imine.
- La deuxième étape correspond à une attaque nucléophile intramoléculaire de l'azote de la fonction amide ou thioamide ($X = O ; S$) sur le groupement carbonyle (qui est protoné) donnant lieu à la formation d'un cycle intermédiaire, qui après déshydratation permet l'obtention des composés 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-ones.

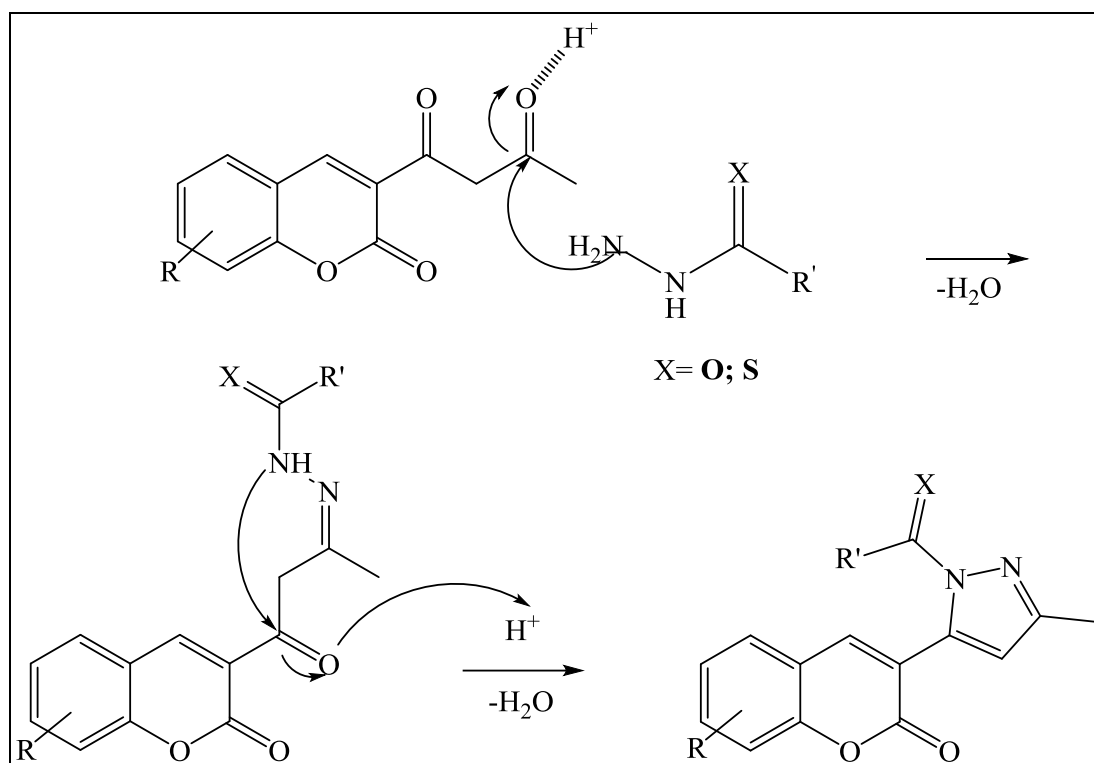


Figure II.13 : Mécanisme de synthèse des dérivés de la 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-one.

1.7 Conclusion

Nous avons complété la série des dérivés de la 3-(3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)chromen-2(2H)-one par des nouveaux produits binucléophile (thiosemicarbazide, *N*-(2-(hydrazinecarbonyl)phenyl) benzamide, l'isonicotinohydrazide et 2-hydroxybenzohydrazide), non décrits dans la littérature.

2. Appareillage et technique d'analyse

2.1 Point de fusion

Les points de fusion des composés ont été mesurés à l'aide d'un appareil digital de type melting point apparatus, SMP30 au laboratoire pharmaceutique pédagogique du département de chimie, UMMTO.

2.2 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté des 3,4-dihydropyrimidinones a été contrôlée par chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice de type 60 **F254** à support en aluminium. Les produits sont dissous dans l'éthanol et l'éluant utilisé est un mélange de chloroforme/méthanol (3 ml / 3 gouttes). La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.

2.3 Spectroscopie UV/Visible

Les spectres UV/Visible ont été enregistrés en solution dans le DMSO à température ambiante du laboratoire, à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible de type Thermo Scientifique EVOLUTION 220 relié à un ordinateur, au laboratoire de l'UMMTO.

2.4 Réactifs

Les solvants utilisés : l'éthanol, le méthanol, le chloroforme, diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les réactifs utilisés : la 3-acétoacétylcoumarine, 1-(6-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)butane-1,3-dione, 1-(7-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)butane-1,3-dione, 1-(8 hydroxy 2 oxo-2H-chromen-3-yl)butane-1,3-dione, 1-(8-nitro-2-oxo-2H-chromen-3-yl)butane-1,3 dione, 1-(3-oxo-3H-benzo[f]chromen-2-yl)butane-1,3-dione, 2-hydroxybenzohydrazide, l'hydrazinecarbothioamide, l'isonicotinohydrazide et N-(2 (hydrazinecarbonyl)phenyl) benzamide.

Le catalyseur utilisé : l'acide chlorhydrique (HCl).

3. Manipulations

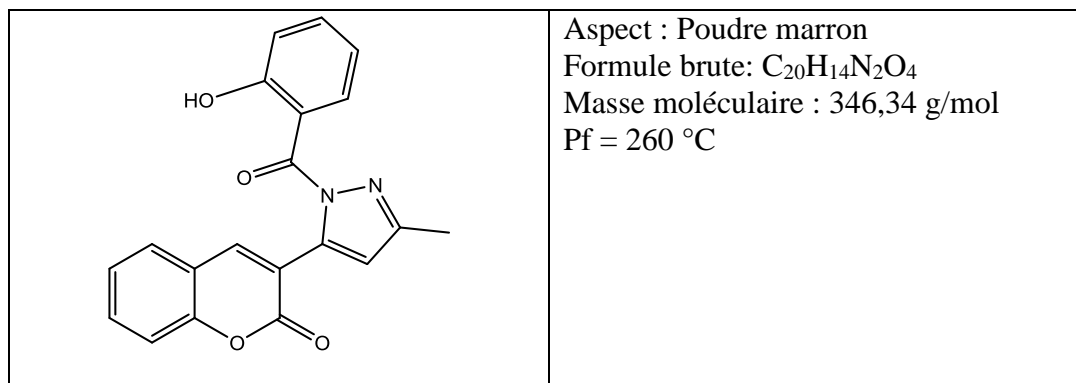
3.1 Synthèse des 3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one

Dans un ballon de 50 ml, surmonté d'un réfrigérant et muni d'une agitation magnétique sont introduits 0,15 g de la 2-hydroxybenzohydrazide (1mmol), un dérivé 3-acétoacétylcoumarine (1 mmol) avec l'acide chloridrique (HCl) (20 gouttes) comme catalyseur, dans 10 ml d'éthanol. Le mélange est porté au reflux pendant quelques heures.

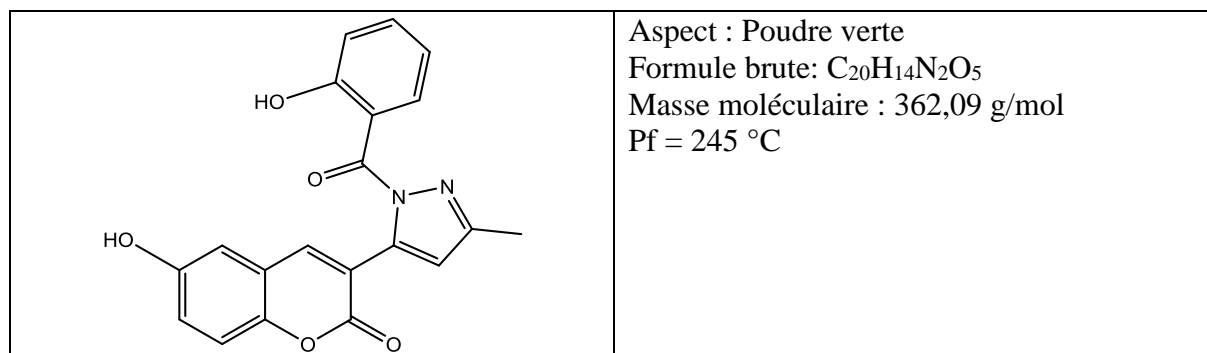
A la fin de la réaction, le précipité formé va subir une filtration pour récupérer un solide qui à son tour va être séché pour récupérer le produit. La pureté des produits a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM).

Une recristallisation dans le propan-2-ol est faite pour le composé **3a**.

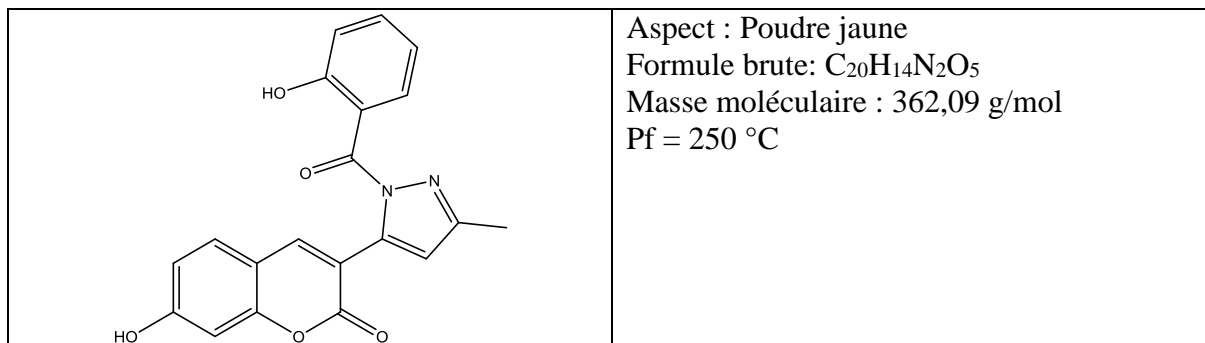
3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (**3a**)



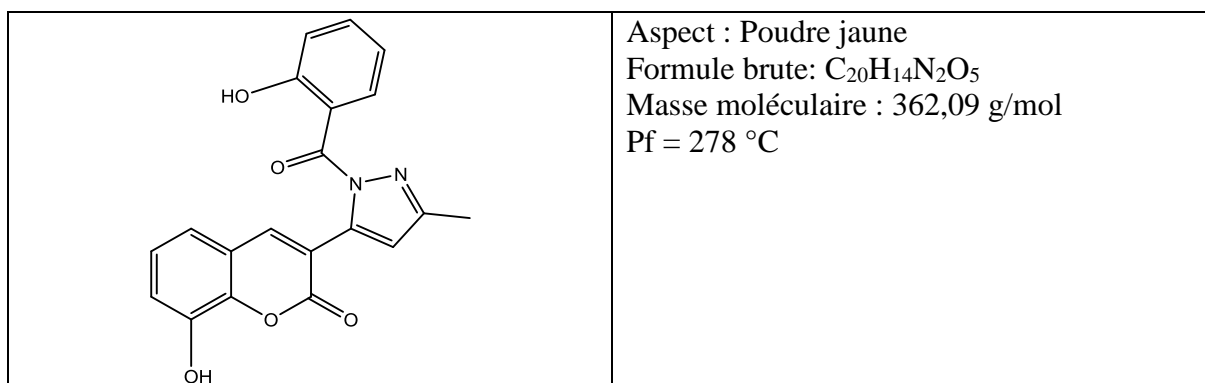
6-hydroxy-3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (**3b**)



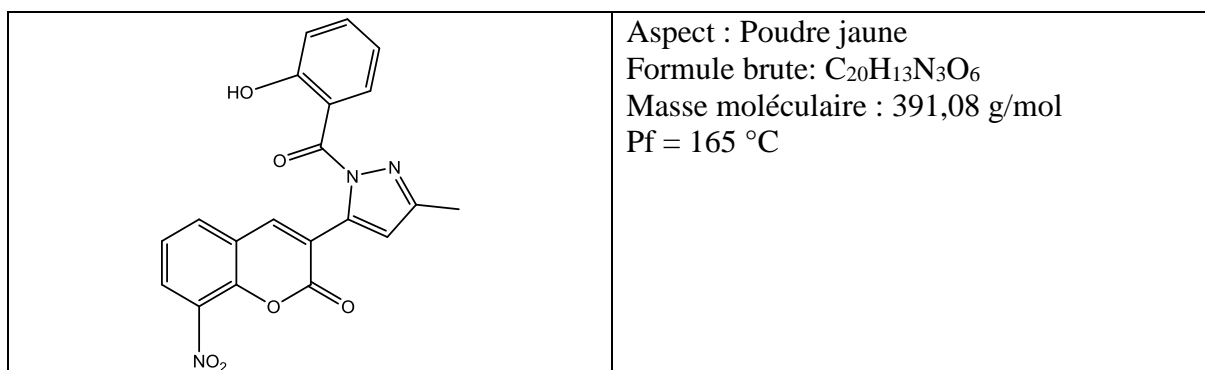
7-hydroxy-3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (3c)



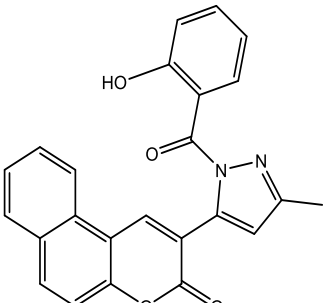
8-hydroxy-3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (3d)



3-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-8-nitro-2H-chromen-2-one (3e)



2-(1-(2-hydroxybenzoyl)-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-3H-benzo[f]chromen-3-one (3f)

	<p>Aspect : Poudre jaune Formule brute: C₂₄H₁₆N₂O₄ Masse moléculaire : 396,40 g/mol Pf = 240 °C</p>
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

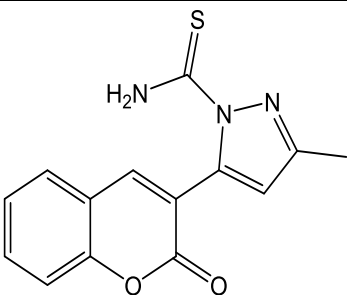
3.2 Synthèse des 3-méthyl-5-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-1H-pyrazole-1-carbothioamides

Dans un ballon de 50 ml, surmonté d'un réfrigérant et muni d'une agitation magnétique sont introduits 0,091 g de l'hydrazinecarbothioamide (1mmol), un dérivé 3-acétoacétylcoumarine (1 mmol) avec l'acide chloridrique (HCl) (20 gouttes) comme catalyseur, dans 10 ml d'éthanol. Le mélange est porté au reflux pendant quelques heures.

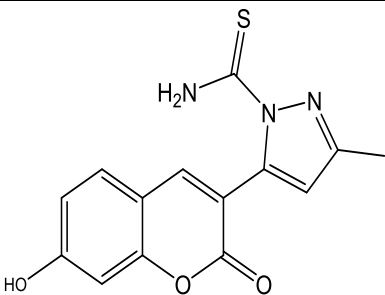
A la fin de la réaction, de l'eau distillée est ajoutée. Le mélange réactionnel est mis en agitation pour neutraliser et le solide formé est récupéré par filtration puis séché pour obtenir le produit.

La pureté a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM).

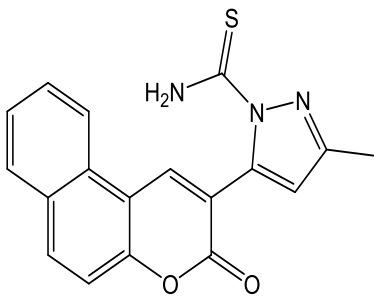
3-méthyl-5-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-1H-pyrazole-1-carbothioamide (5a)

	<p>Aspect : Poudre jaune Formule brute: C₁₄H₁₁N₃O₂S Masse moléculaire : 285,06 g/mol Pf = 176 °C</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

5-(7-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-3-méthyl-1H-pyrazole-1-carbothioamide (5b)

	<p>Aspect : Poudre jaune Formule brute: C₁₄H₁₁N₃O₃S Masse moléculaire : 301,05 g/mol Pf = 288 °C</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3-méthyl-5-(2-oxo-3H-benzo[f]chromen-2-yl)-1H-pyrazole-1-carbothioamide (5c)

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂ S Masse moléculaire : 335,38 g/mol Pf = 267 °C
-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3.3 Synthèse des 3-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-ones

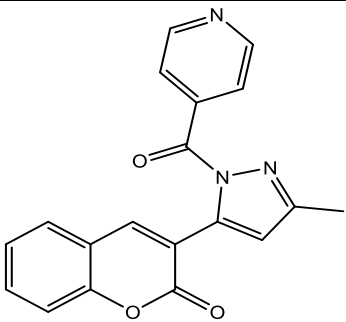
Dans un ballon de 50 ml, surmonté d'un réfrigérant et muni d'une agitation magnétique sont introduits 0,137 g de l'isonicotinohydrazide (1mmol), un dérivé 3-acétoacétylcoumarine (1mmol) avec 20 gouttes de HCl comme catalyseur, dans 10 ml d'éthanol. Le mélange est porté au reflux pendant quelques heures.

A la fin de la réaction de l'eau distillée est ajoutée pour **7c** et de l'acétate de sodium pour **7a** et **7b**. Le mélange réactionnel est Le mélange réactionnel est mis en agitation pour neutraliser et le solide formé est récupéré par filtration puis séché pour obtenir le produit.

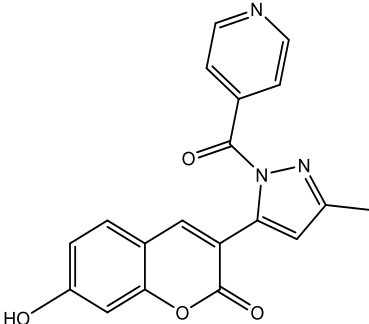
Une recristallisation dans le cyclohexane est faite pour le composé **7a**.

La pureté de tous les produits a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM).

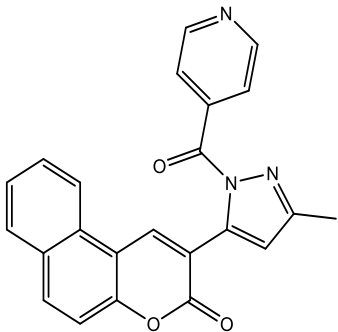
3-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (7a)

	Aspect : Poudre marron Formule brute: C ₁₉ H ₁₃ N ₃ O ₃ Masse moléculaire : 331,33 g/mol Pf = 120 °C
-------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

7-hydroxy-3-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-2H-chromen-2-one (7b)

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₁₉ H ₁₃ N ₃ O ₄ Masse moléculaire : 347,09 g/mol Pf = 230 °C
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

2-(1-isonicotinoyl-3-méthyl-1H-pyrazol-5-yl)-3H-benzo[f]chromen-3-one (7c)

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₂₃ H ₁₅ N ₃ O ₃ Masse moléculaire : 381,39 g/mol Pf = 245 °C
------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

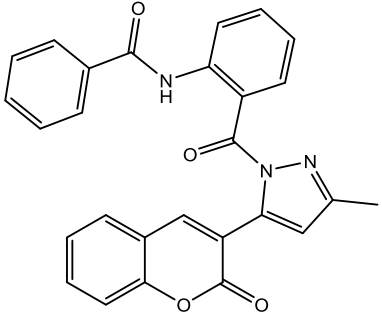
3.4 Synthèse des N-(2-(3-méthyl-5-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-1H-pyrazole-1-carbonyl)phenyl)benzamide

Dans un ballon de 50 ml, surmonté d'un réfrigérant et muni d'une agitation magnétique sont introduits 0,25 g de la N-(2 (hydrazinecarbonyl)phenyl)benzamide (1mmol), un dérivé 3-acétoacétylcoumarine (1mmol) avec 20gouttes de HCl comme catalyseur, dans 10 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel est porté sous agitation à reflux pendant quelques heures.

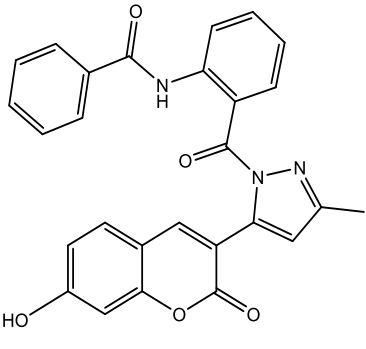
A la fin de la réaction de l'eau distillée est ajoutée. Le mélange réactionnel est mis en agitation pour neutraliser et le solide formé est récupéré par filtration puis séché pour obtenir le produit.

La pureté a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM).

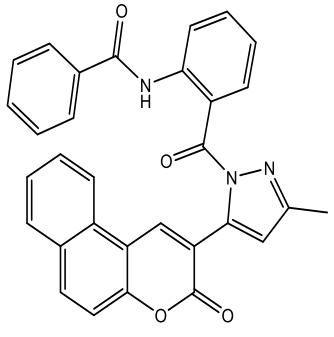
***N*-(2-(3-méthyl-5-(2-oxo-2*H*-chromen-3-yl)-1*H*-pyrazole-1-carbonyl)phényl)benzamide (9a)**

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₂₇ H ₁₉ N ₃ O ₄ Masse moléculaire : 449,14 g/mol Pf = 184 °C
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

***N*-(2-(5-(7-hydroxy-2-oxo-2*H*-chromen-3-yl)-3-méthyl-1*H*-pyrazole-1-carbonyl)phényl)benzamide (9b)**

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₂₇ H ₁₉ N ₃ O ₅ Masse moléculaire : 465,47 g/mol Pf = 165 °C
------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

***N*-(2-(3-méthyl-5-(3-oxo-3*H*-benzo[*f*]chromen-2-yl)-1*H*-pyrazole-1-carbonyl)phényl)benzamide (9c)**

	Aspect : Poudre jaune Formule brute: C ₃₁ H ₂₁ N ₃ O ₄ Masse moléculaire : 499,53 g/mol Pf = 225 °C
-------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

CHAPITRE III

1. Activité antioxydante

1.1 Introduction

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tel que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tel que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et le déclin du système immunitaire [22]. Ces diverses maladies auraient, entre autres, la même composante qui permet au bois de brûler, à l'huile de rancir, à l'aliment d'altérer ou au fer de rouiller. L'un des principaux acteurs de tout cela est l'oxydation de l'oxygène [23].

1.2 Oxydation

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les radicaux libres sont générés naturellement au cours du métabolisme normal de l'oxygène in vivo en très faible quantité mais peuvent être libérés suite à un stress oxydatif [24].

1.3 Stress oxydatif

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes de défense des antioxydants, avec comme conséquence, l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour la cellule [25].

1.4 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. Celle-ci est variable selon la nature du radical.

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène dont les plus importants sont l'oxygène singulet (O₂[•]), le radical hydroxyle (OH[•]) et le radical peroxy (ROO[•]), mais également les composés non radicalaires comme ROOH, H₂O₂ et IO₂ [26].

1.5 Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations, comparée à celles du substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Par commodité, les antioxydants sont traditionnellement divisés en deux classes, les antioxydants primaires ou les briseurs de chaîne et les antioxydants secondaires ou préventifs. Les antioxydants secondaires ou préventifs sont des composés qui ralentissent le taux d'oxydation. Ceci peut être réalisé de différentes manières, notamment par élimination du substrat ou de l'extinction de l'oxygène singulet. Les antioxydants primaires, lorsqu'ils sont présents à l'état de traces, peuvent retarder ou inhiber l'étape d'initiation en réagissant avec un radical lipidique ou inhiber l'étape de propagation en réagissant avec des radicaux peroxyde ou alkoxyde [27].

Il existe aussi d'autres substances qui peuvent agir en tant qu'un antioxydant comme la vitamine E (tocophérols et des tocotriénols), l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc.

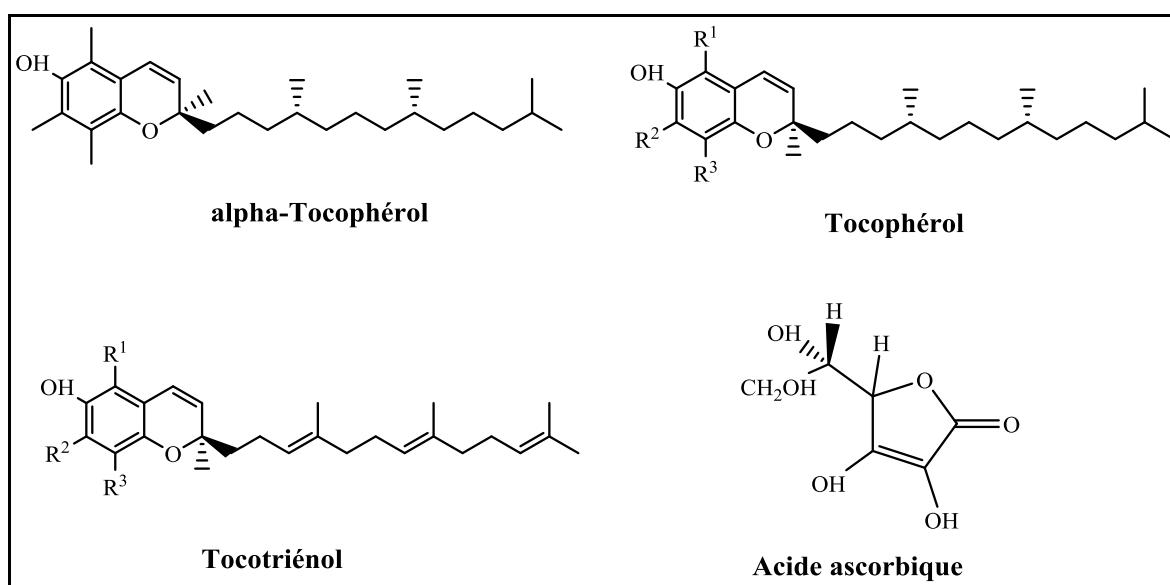


Figure III.1. Structure de la Vitamine E (tocophérols, tocotriénols) et l'acide ascorbique.

1.6 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH [28]. Il s'effectue à température ambiante, ceci permet d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des composés hydrophiles très riches en composés phénoliques [29].

L'activité anti-radicalaire des produits sélectionnés **3b-e**, **7a** et **7c** a été déterminée selon la méthode: qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde λ de 517 nm [30].

La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (Figure III.2); le DPPH va être réduit et sa couleur vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance. La réaction de DPPH est représentée dans la figure suivante :

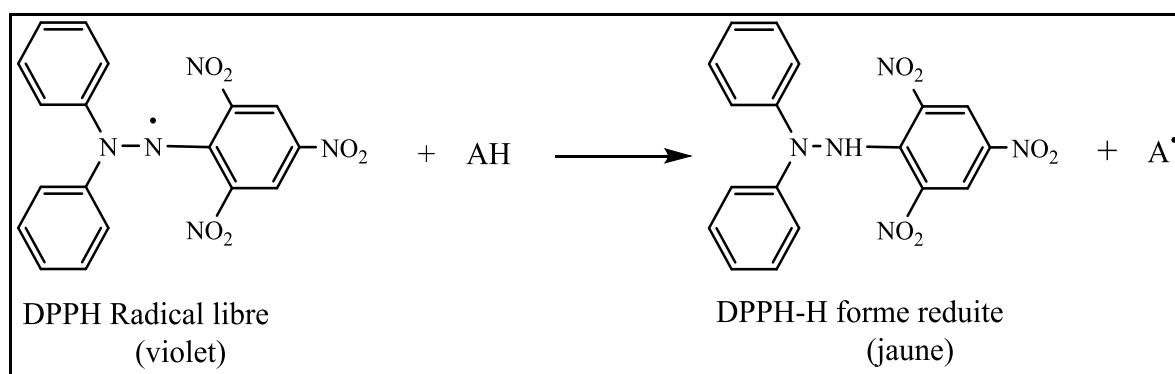


Figure III.2 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées :

- D'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH (IC50%).
- D'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction [31].

Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage % CR, où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le

radical libre DPPH et l'échantillon de l'antioxydant (A_1) est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (A_0) (solution témoin ou contrôle) à un temps t :

$$\%CR = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (1)$$

1.7 Mode opératoire

Les produits testés sont préparés à des concentrations de 10^{-1} mol/L dans le DMSO puis dilués à un demi pour avoir des concentrations de 5×10^{-2} M ; $2,5 \times 10^{-2}$ M ; $1,25 \times 10^{-2}$ M et $6,25 \times 10^{-3}$ M. Quant à la solution de DPPH, elle est préparée en solubilisant 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol.

Un volume de 40 μ l, de chaque échantillon de chacune des concentrations est ajouté à 2ml d'une solution de radicaux DPPH \cdot dissoute dans l'éthanol. Le mélange est laissé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance du DPPH \cdot est déterminée par spectrophotométrie UV/Visible à 517 nm. Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme référence. Le blanc ou le standard est préparé à partir de 2ml de la solution éthanolique du radical DPPH \cdot et 40 μ l de DMSO puis laissé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une heure.

Les 3-(3-méthyl-1*H*-pyrazol-5-yl)chromen-2(2*H*)-ones testées **3b-e**, **7a** et **7c** sont présentées dans la figure III.3.

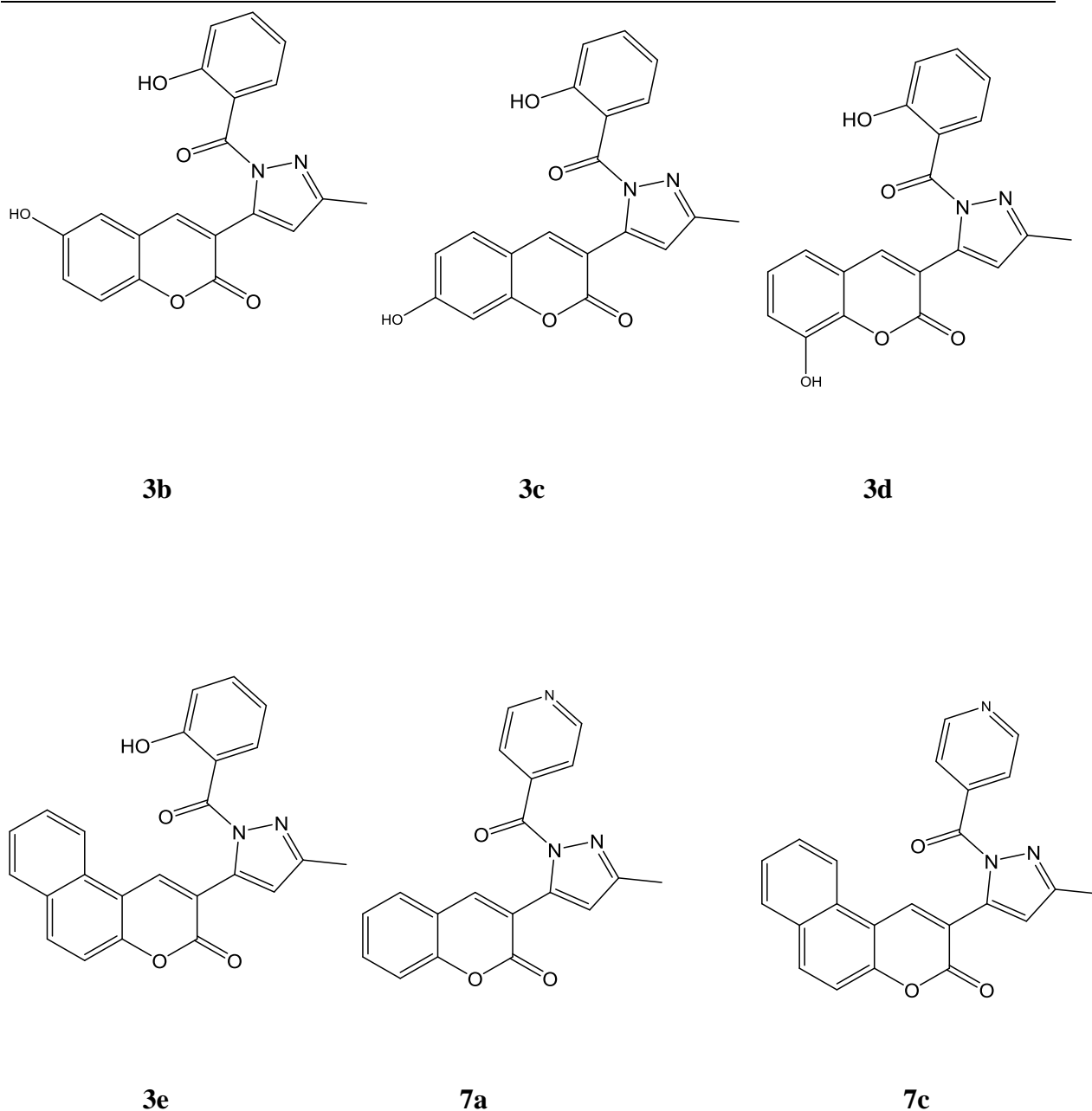


Figure III.3 : Molécules sélectionnées pour évaluer leur activité antioxydante.

2. Résultats et discussions

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure III.4 qui représente la variation de l'absorbance des produits testés ainsi que la référence (l'acide ascorbique) en fonction de la concentration.

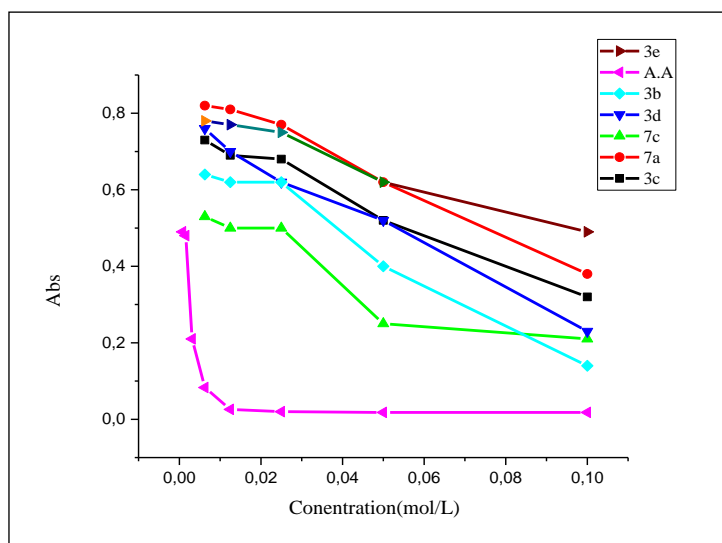


Figure III.4 : Absorbance en fonction de la Concentration [C] des produits testés.

Cette représentation illustre bien le pouvoir antioxydant de ces six produits testés.

Les pourcentages de capture du radical DPPH (% CR) ont été calculés par la relation 1. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Activité antioxydante (%) évaluée par le radical DPPH des composés **3b-e**, **7a** et **7c**.

%CR

Concentration (mol/L)	Produits						
	3b	3c	3d	3e	7a	7c	Acide ascorbique
C₀ = 0,1	84	62	74	44	57	76	99,00
C₁ = 0,05	55	40	40	28	29	71	98,87
C₂ = 0,025	28	22	29	13	11	43	98,60
C₃ = 0,0125	28	20	19	11	6	42	98,40
C₄ = 0,00625	27	16	13	10	6	38	97,00

Les résultats montrent que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. Tous les produits testés présentent une bonne activité antioxydante pour la concentration C₀ allant de 44 à 84%. Le composé **3b** est le plus actif de la série suivie de **7c** et **3d** ceci est dû probablement à la présence du groupement OH sur le

noyau coumarinique qui augmente le pouvoir antioxydant. La position ortho et para ont une influence sur l'activité en effet la position ortho et para du OH renforce l'activité antioxydante et ce qui est en accord avec nos résultats para > ortho > méta.

2.1 Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC 50

L'IC₅₀ (Concentration inhibitrice 50), appelée également EC₅₀ (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur de CE₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande [32]. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par la formule de la régression des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des produits testées. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau III .2 : Valeurs des IC₅₀ des produits **3b-e**, **7a**, **7c** et l'acide ascorbique.

Produit	IC 50%
3b	0,0470
3c	0,0750
3d	0,0630
3e	0,1140
7a	0,0880
7c	0,0290
Acide ascorbique	0.0016

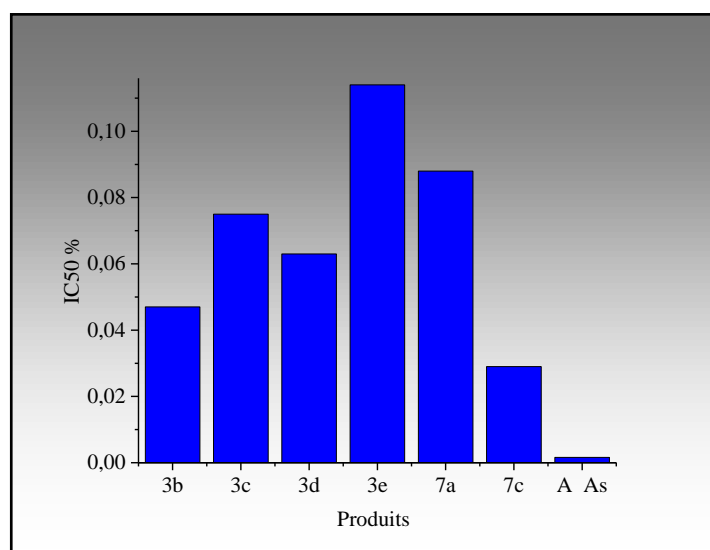


Figure III.5: Valeurs d'IC₅₀% des composés **3b-e**, **7a**, **7c** et l'acide ascorbique.

D'après cet histogramme, le produit **7c** possède l'activité antioxydante la plus importante. Le classement de l'activité antioxydante des composés **3b-e**, **7a** et **7c** est donné comme suit (de la plus grande à la plus petite): **7c > 3b > 3d > 3c > 7a > 3e**

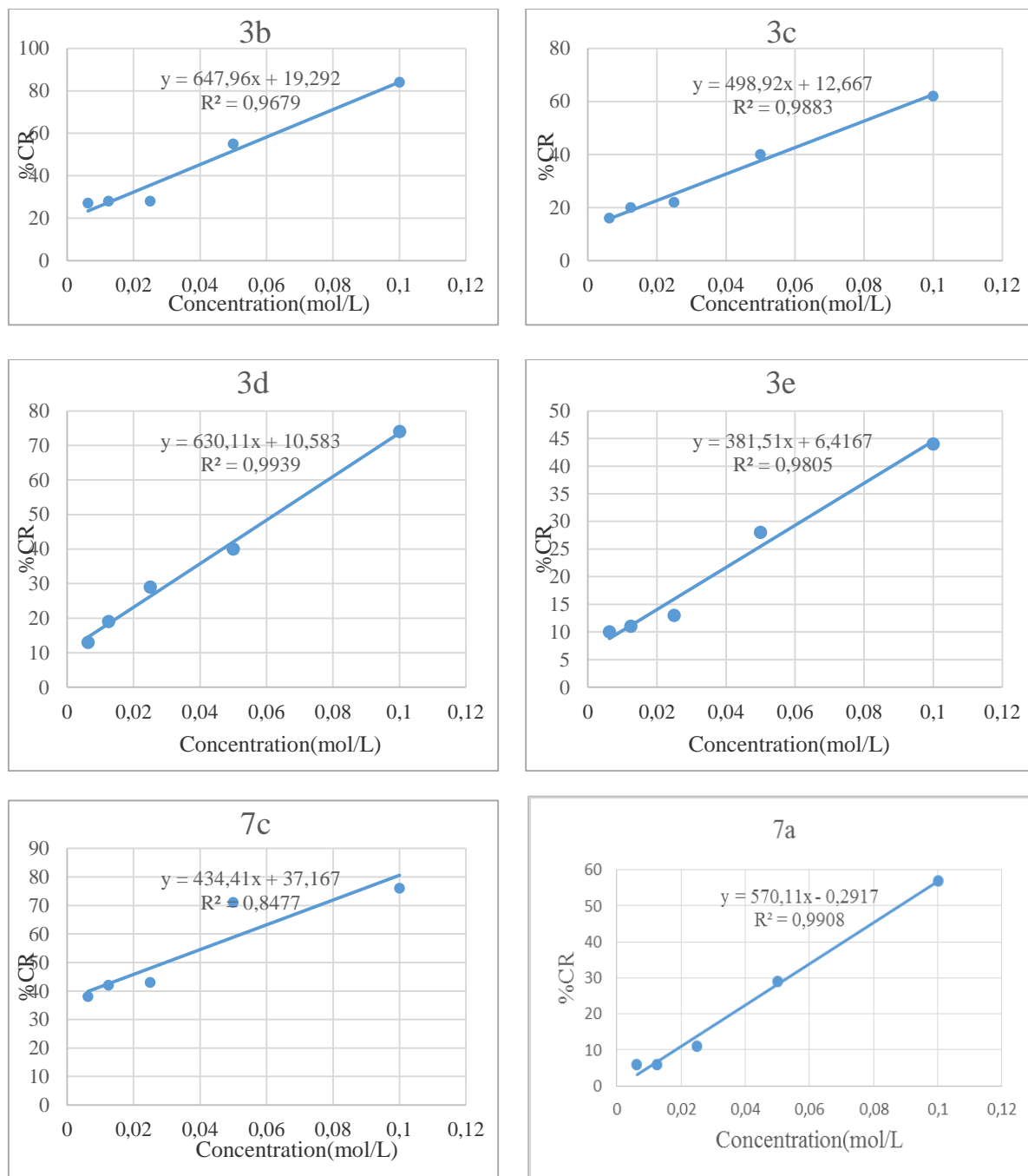


Figure III.6 : Pourcentage de capture du radical DPPH des composés **3b-e**, **7a**, **7c** et l'acide ascorbique en fonction de la concentration.

Les courbes représentant la variation de pourcentage de capture du radical DPPH en fonction de la concentration des échantillons testés et l'acide ascorbique permettent l'estimation par extrapolation à 50% d'inhibition la valeur d'IC50 de chaque composé.

Conclusion et perspectives

Dans le cadre de ce mémoire, nous avons pu synthétiser une nouvelle série de la 3-(3-méthyl-1-aryl-1*H*-pyrazol-5-yl)-2*H*-chromen-2-one avec de bons rendements.

La pureté des produits a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince (CCM).

Les produits obtenus ont été caractérisés par la spectroscopie UV/Visible et IR.

L'étude par spectrophotométrie UV/Visible des composés : **3b-e**, **5a-c**, **7a**, **7c** et **9a-c** a permis d'identifier les bandes d'absorptions attribuées aux transitions électroniques $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$.

La spectroscopie IR permet quant à elle d'identifier les groupements fonctionnels présents dans les produits et le mode de vibration des liaisons chimiques; en effet chaque bande est associée à une liaison simple ou multiple entre deux atomes. Les principales bandes révélées par les spectres pour les composés **3b**, **3d**, **3e**, **3f**, **5b**, **5c**, **7c** et **9a-c** sont celles des groupements : C=N (pyrazoles) et C=O coumarine.

L'activité antioxydante des composés **3b-e**, **7a** et **7c** a été évaluée par la méthode de DPPH. . Cette dernière a montré que les produits testés ont une bonne activité antioxydante.

Quant aux perspectives de ce travail, elles peuvent s'articuler autour des points suivants:

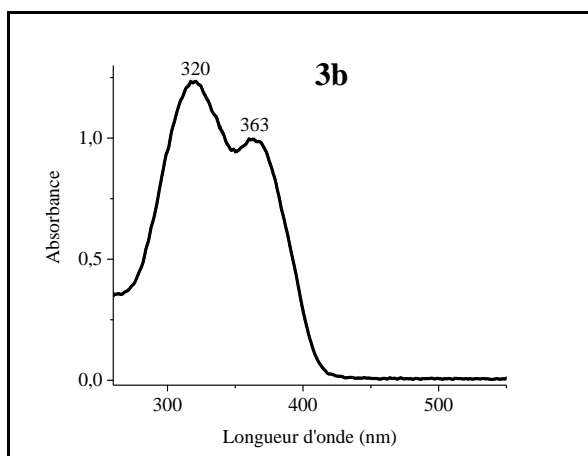
- Faire une étude spectroscopique complète des composés synthétisés : RMN 1H, RMN 13C, spectrométrie de masse....
- Approfondir l'étude biologique de nos produits: tests antibactériens et anti-inflammatoires car la littérature donne énormément des résultats intéressants sur ces sujets.
- Synthèse de nouveaux composés hétérocycliques de type pyrazolo-coumarine biologiquement actifs.

- [1]: Kerrouchi K., Radi S., Ramli Y., Taoufik J., Yahia N. Mabkhot, al-aizari F. A., Ansar M., Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives, molecules, **2018**, 23,134.
- [2]: Nimbalkar S., Shital V. Hote. Pyrazole Derivatives and their Synthesis - review. International journal on recent and innovation trends in computing and communication. **2015**, 3, 61.
- [3]: Brase S., Privileged Scaffolds in Medicinal Chemistry Design, Synthesis, Evaluation. Germany .The Royal Society of Chemistry; **2016**.chapter 4.
- [4]: Abu-Hashem A. A., Gouda M. A., Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel Quinoline, Chromene, Pyrazole derivatives bearing Triazolopyrimidine moiety. Journal Heterocyclic Chemistry, **2016**, 00, 00.
- [5]: Anam A., Abad A., Asif M. and Shamsuzzaman. Biologically active pyrazole derivatives. New Journal Chemistry, **2017**, 41, 16.
- [6]: Ben Mohamed S., Yahia Rachedi, Maamar Hamdi, Franck Le Bideau, Camille Dejean, and Françoise Dumas .An Efficient Synthetic Access to Substituted Thiazolyl-pyrazolylchromene-2-ones from Dehydroacetic Acid and Coumarin Derivatives by a Multicomponent Approach. European Journal Organic Chemistry. **2016**, 2628.
- [7]: Alizadeh A., Ghanbaripour R., Synthesis of 3-(3-Methyl-1-aryl-1*H*-pyrazol-5-yl)-2*H*-2-chromen-2-one. Derivatives via a One-Pot, Three Component Reaction. **2014**, 44, 1635.
- [8]: DrugBank-Database, www.drugbank.ca.
- [9]: Casavant M. J., Pediatrics, **2001**, 107, 170.
- [10]: Weissberger A., Pyrazoles, pyrazolines, pyrazolidines, indazoles and condensed rings. The Chemistry of Heterocyclic Compounds. New York.**1967**.
- [11]: Fustero S., Antonio S. F., Sanz-Cervera. J. F., Recent Advances in the Synthesis of Pyrazoles. A Review. Organic Preparations and Procedures International **2009**, 41, 253.
- [12]: Fadela K., Synthèse, caractérisation et étude de la réactivité des cétones α , β -insaturée (chalcones) vis-à-vis le thiosemicarbazide : Application à la synthèse des pyrazoles. Mémoire de master, Université Dr Moulay Tahar – Saida- **2017**.
- [13] : Benbekreti Fatima Zohra : Synthèse et réactivité de la coumarine. Mémoire de magister, Université d'Oran ES-Senia, **2007**.
- [14]: Penta S., Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives. Department of Chemistry. India. **2015**.

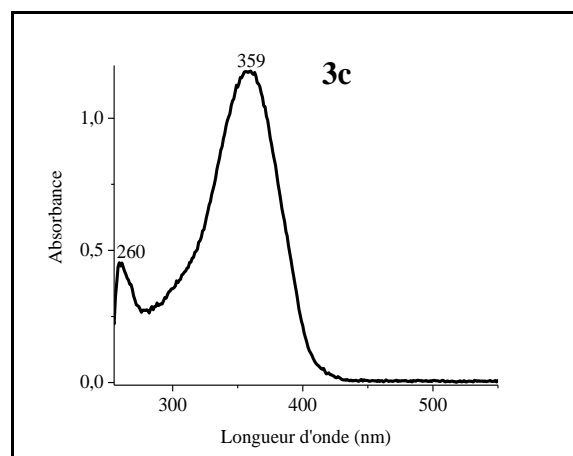
- [15]: Wu L., Wang X., Xu W., Farzaneh F., Xu R. The Structure and Pharmacological Functions of Coumarins and Their Derivatives. *Current Medicinal Chemistry*, **2009**, 16, 4236.
- [16]: Egan D., O’Kennedy R., Morane E., Cox D., Prosser E., R. Thrones D., The pharmacology, metabolism, analysis and applications of coumarin and coumarin related compounds drug metabolism, reviews. **1990**, 22(5), 503.
- [17]: AL-haj hussien F., Merza J., Studying of Pechmann Condensation Products of Ethyl Acetoacetate with 2, 7-Dihydroxynaphthalene. *Chemistry and Materials Research*. **2016**, 8, 6.
- [18]: Rezine F., Fedaouche M. S., Coumarines à intérêt thérapeutique : Synthèse et contrôle analytique. Mémoire de master, Université Abou Bekr Belkaïd faculté de médecine. **2017**.
- [19]: Grigoryeva O. A., Fedotova O. V., Shkel A. A., Interaction of 3-acetoacetyl-2H-chromen-2-one with azanucleophilic reagents. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **2011**, 46, 12.
- [20]: Ben Mohamed S., Rachedi Y., Hamdi M., Le Bideau F., Dejean C. and Dumas F., An Efficient Synthetic Access to Substituted Thiazolyl-pyrazolylchromene-2-ones from Dehydroacetic Acid and Coumarin Derivatives by a Multicomponent Approach. *European Journal Organic of Chemistry*. **2016**, 2628.
- [21]: Siddiqui Z. N., Asad M., New heterocyclic derivatives of 3-formyl-4-hydroxycoumarin. *Indian Journal of Chemistry* 45B, **2006**, 2704.
- [22]: Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R., Mesure de la résistance aux radicaux libres, Sixièmes Journées de la Recherche Avicole. **2005**, 554.
- [23]: Bouzidi S., Slimane A. N., Molécules hybrides dérivées du coumarindihydropyrimidinones/thiones : Synthèse et activités biologiques. Mémoire de master, UMMTO, 2018.
- [24]: Benazzouz-Touami A., Synthèse de nouvelles séries hétérocycliques d’intérêts thérapeutiques, valorisation en UV-visible et fluorescence. Thèse de doctorat UMMTO. **2016**.
- [25]: Desmier T.: Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. Thèse de doctorat université de Limoges. France. **2016**.
- [26]: Mechernene B. Évaluation de l’activité antioxydante de quelques extraits de la racine de *Bryonia dioica*. Mémoire de master biologie Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen. **2014**.
- [27]: Michael Antolovich, Paul D. Prenzler, Emiliós Patsalides, Suzanne McDonald and Kevin Robards. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, **2002**, 127, 183.

- [28]: Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evans C.A., Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **1995**, 339.
- [29]: Hatzidimitriou E.F., Nenadis N., Tsimidou M.Z., Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions, **2007**. *Food Chemistry*. 105, 1511.
- [30]: Sanchez-Moreno C., Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*. **2002**, 8, 121.
- [31]: Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. : Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. **2009**, 4, 25.
- [32]: Kebbab R. Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal: Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mémoire de magister UMMTO, **2014**.

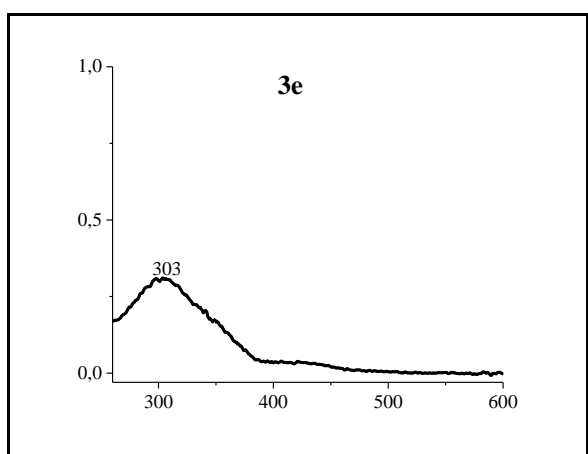
Annexes



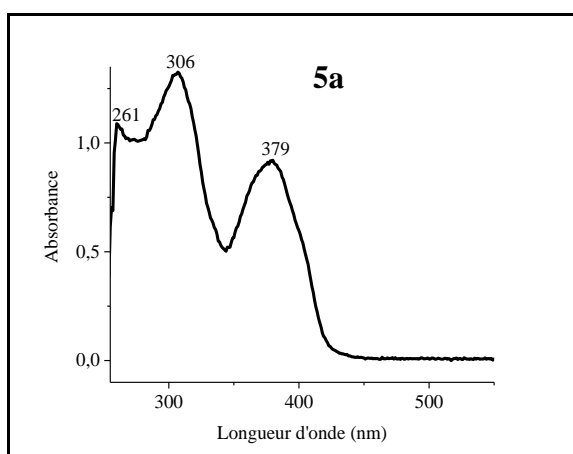
Spectre UV/Visible du composé **3b**



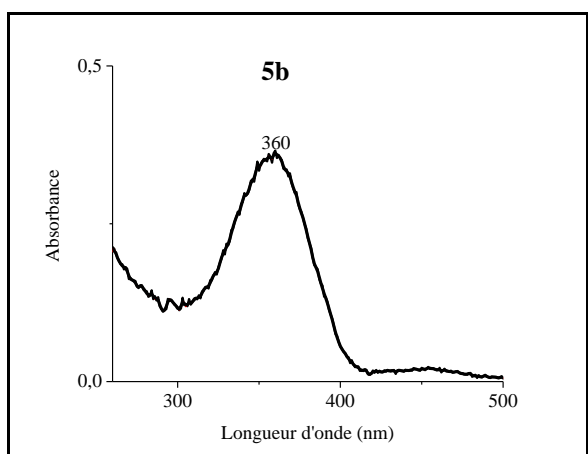
Spectre UV/Visible du composé **3c**



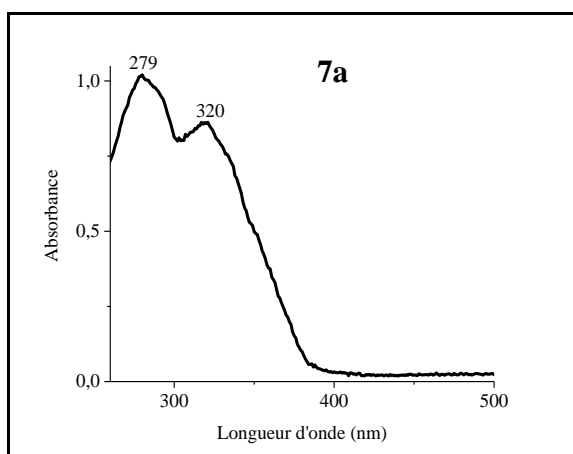
Spectre UV/Visible du composé **3e**



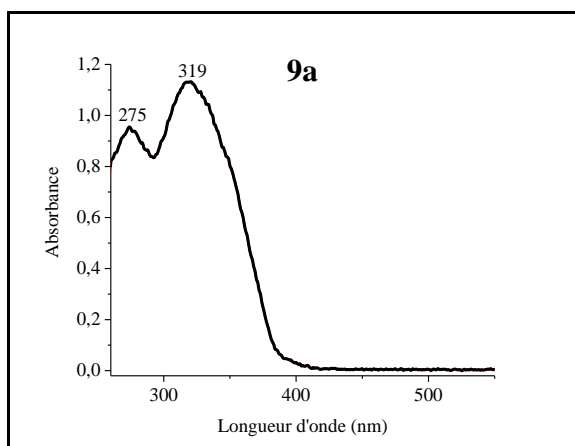
Spectre UV/Visible du composé **5a**



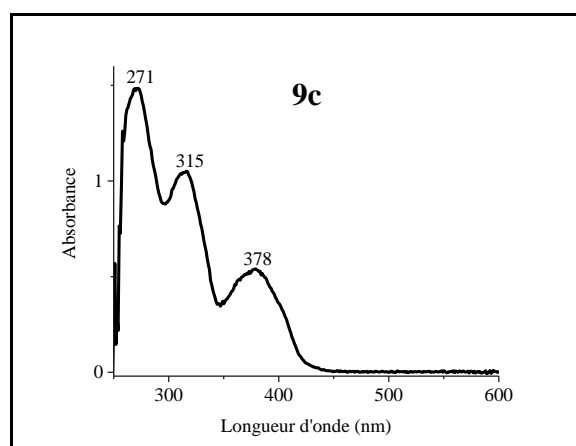
Spectre UV/Visible du composé **5b**



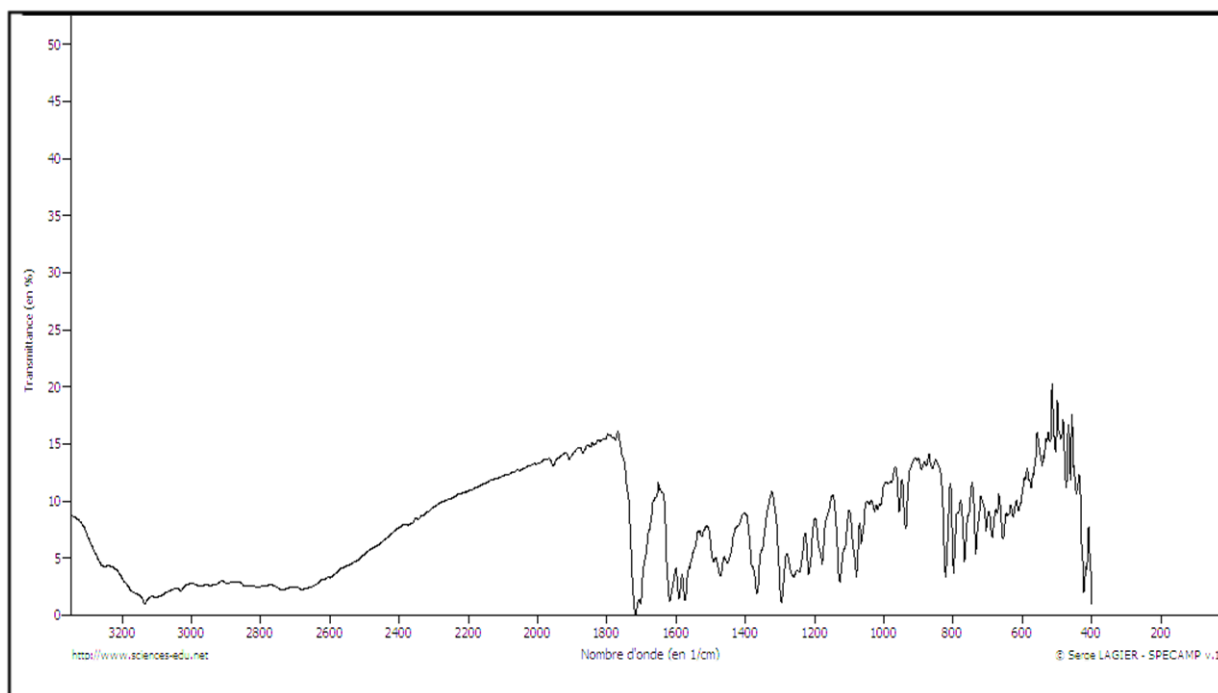
Spectre UV/Visible du composé **7a**



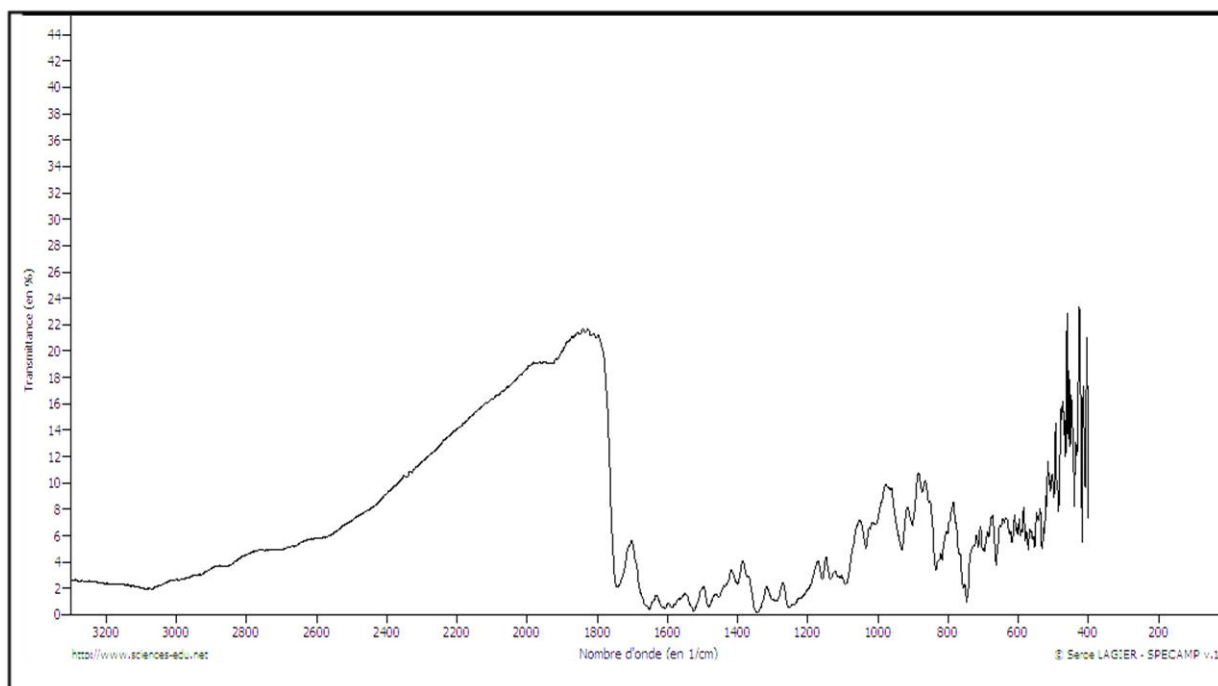
Spectre UV/Visible du composé **9a**



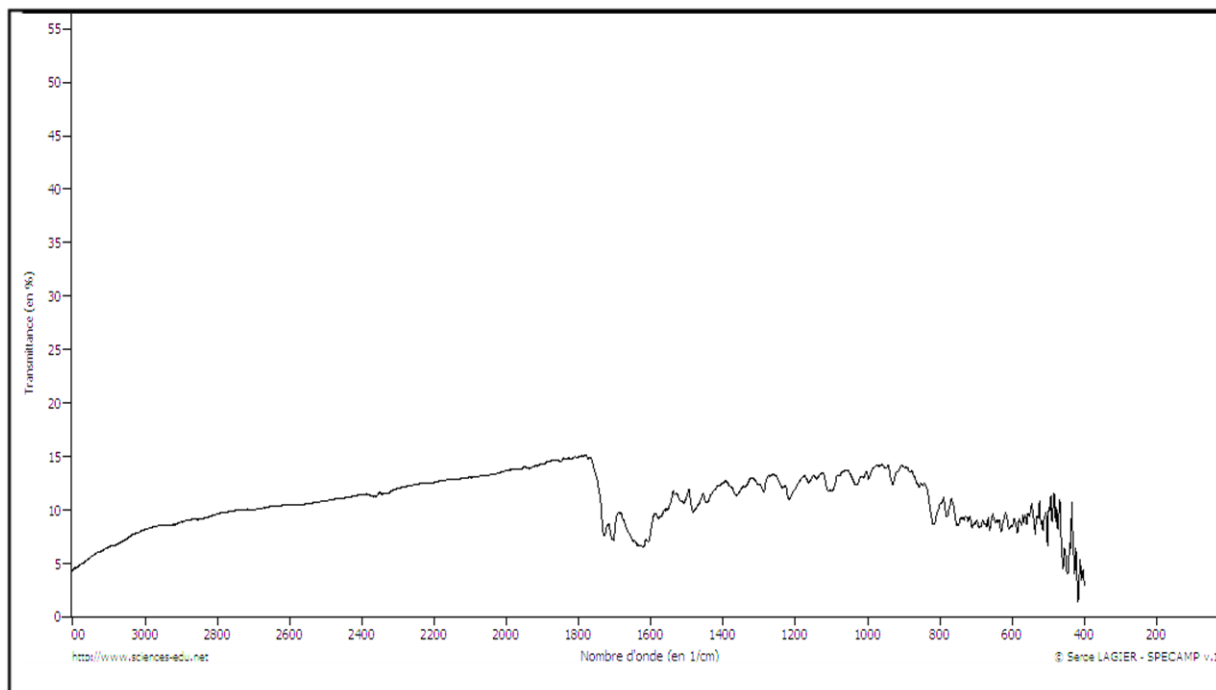
Spectre UV/Visible du composé **9c**



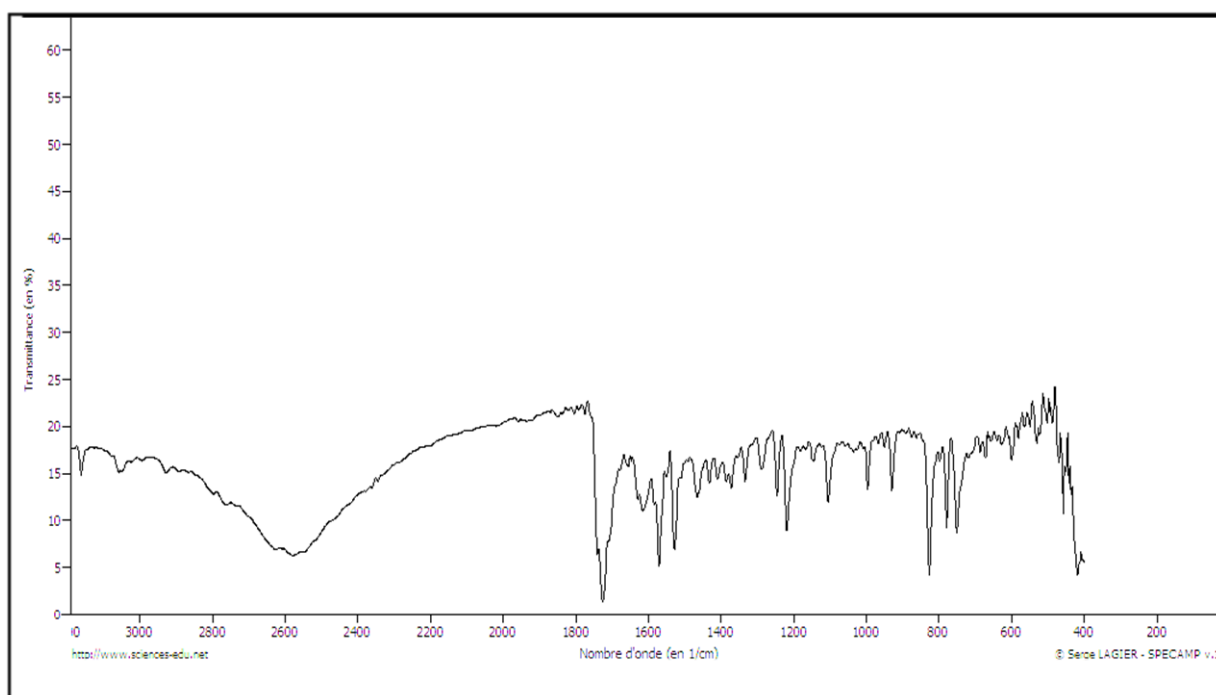
Spectre infrarouge du composé **3d**.



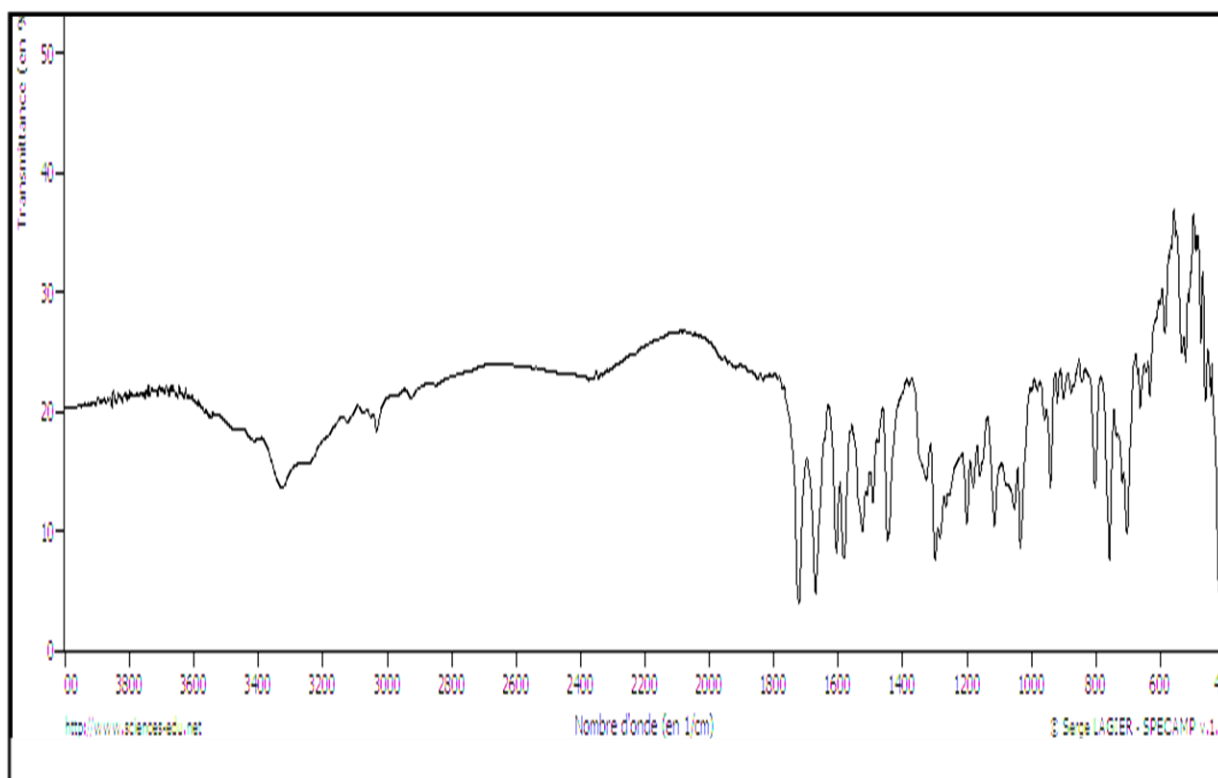
Spectre infrarouge du composé **3e**.



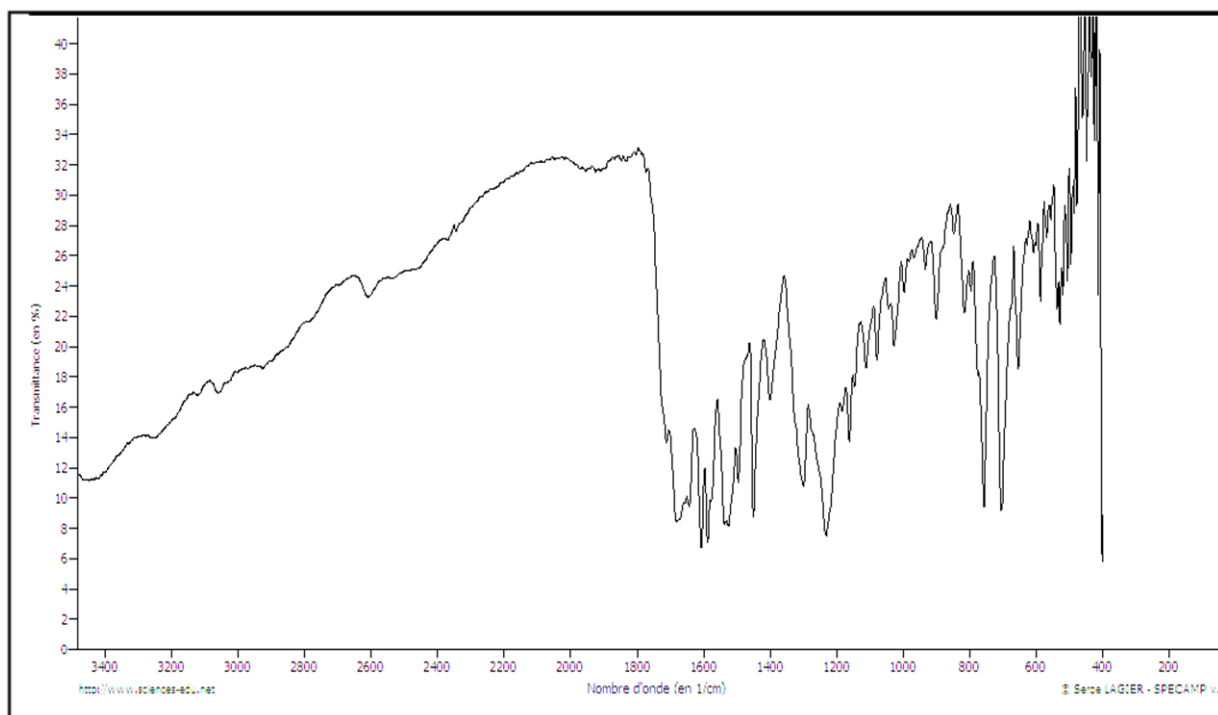
Spectre infrarouge du composé **3f**.



Spectre infrarouge du composé **5c**.



Spectre infrarouge du composé **9a**.



Spectre infrarouge du composé **9c**.

Résumé

Dans notre travail, nous avons décrit une stratégie simple pour la synthèse d'une nouvelle série de composés 3-(3-méthyl-1-aryl-1*H*-pyrazol-5-yl)chromen-2(2*H*)-ones en utilisant la 3-acétoacétylcoumarine et ses dérivés en tant que réactifs principaux.

L'ensemble des produits préparés ont été caractérisés par chromatographie sur couche mince, points de fusion, techniques spectroscopiques UV/visible et IR.

L'étude du pouvoir antioxydant de quelques composés a été réalisé par la méthode de réduction du radical DPPH a montré l'existence d'une activité antioxydante.

Mots clés : Pyrazoles, coumarine, 3-acétoacétylcoumarine coumarine, activité antioxydante, DPPH.

Abstract

In our work, we have described a simple strategy for the synthesis of a new series of 3-(3-methyl-1-aryl-1*H*-pyrazol-5-yl)chromen-2(2*H*)-ones compounds using 3-acetoacetyl coumarin and its derivatives as main reagents.

All the products prepared were characterized by thin layer chromatography, melting points, spectroscopic UV / visible and IR techniques.

The study of the antioxidant power of the compounds was carried out by the method of reduction of the radical DPPH showed the existence of an antioxidant activity.

Key words: pyrazoles, coumarin, acetoacetyl coumarin, antioxidant activity, DPPH.