

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ D' MOULAY TAHAR – SAÏDA –



Faculté des Sciences
Département Chimie
MEMOIRE

Présenté par :

RABHI imane

ADDADI Rania

En vue de l'obtention du
Diplôme de master en chimie
Spécialité : Chimie organique

Thème

***Synthèse, caractérisation et évaluation biologique
des dérivés pyrazolones***

Soutenu le 14/07/2021 devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------|--------------------------------|-----------|---------------------------|
| Président | Guendouzi abelkarim | MCA | Université Saïda |
| Encadrant | Ouici Houari Boumediene | Prof | Université Saïda |
| Examinatrice | Ayat oumelkhir | MCB | Université Saïda |
| Examineur | Boudou Farouk | Doctorant | Université Sidi Bel Abbès |

Année universitaire 2020 / 2021

Dédicace

A ma Mère

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée

A mon père

L'épaule solide, l'œil attentif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, QU'ALLAH te préserve et te procure santé et longue vie.

A tous mes frères et sœurs

A toute ma grande famille ADDADI et OTMANI entre lesquelles j'ai grandi

A ma chère binôme Imane et toute sa famille

A mes chères amies : kahina et Rehab

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin

Rania

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma grande mère

Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude, pour ses encouragements et ses orientations.

Ma très chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.

Ma chère Zahia pour son soutien moral et son aide, merci d'être là pour moi

Mes chers sœurs « Fatima, Hamida et Kholoud » en témoignage de toute mon affection.

Mon cher frère Ibrahim El Khalil.

A la famille RABHI et SEDDI entre lesquelles j'ai grandi

A ma chère Rania et sa famille.

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin

Imane

Remerciment

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Allah le toutpuissant de nous avoir donné le courage, la volonté, et la patience pour achever ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à notre encadreur Mr OVICI Houari Boumedienne, professeur à l'Université TAHAR Moulay Saida, et le remercier d'avoir encadré ce travail.

Nous tenons également à lui exprimer notre profonde reconnaissance pour tous les précieux conseils qu'il nous a donné et pour le temps qu'il a consacré pour finir ce travail dans des bonnes conditions.

Nous voudrions aussi remercier les membres de notre jury : Mr GUENDOZI Abdelkarim et madame AYAT Moulkheird'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous adressons de chaleureux remerciements à Mr GUENDOZI AbdelkarimLe président du juryqui nous a honorés en acceptant de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Madame AYAT Moulkhirà bien voulu participer à l'examen de ce mémoire et de faire partie du jury. Nous les adressons nos vifs remerciements.

Nous remercions également monsieur BOUDDOU Farouk pour sa contribution, ses conseils, son aide et sa bienveillance dans la réalisation de ce travail.

Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction générale | 1 |
| <u>Chapitre I</u>: Pyrazolone : propriétés, synthèse, réactivité et applications | 1 |
| I.1. Introduction | 3 |
| I.2. Formes tautomériques des pyrazolones | 4 |
| I. 3. Dérives 3-Pyrazol-5-ones substitué | 4 |
| I. 4. Méthodes de synthèse des pyrazolones | 9 |
| I. 4. 1. Synthèse de 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones | 9 |
| I. 4. 2. Synthèse Acides 1-aryl-5-pyrazolone-3-carboxyliques | 10 |
| I. 4. 3. Synthèse des 3-aryl-1-méthyl-5-pyrazolones (isopyrazolones) | 10 |
| I. 4. 4. Synthèse des 4-amino-1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones | 11 |
| I. 4. 5. Synthèse 5-iminopyrazolones | 11 |
| I. 4. 6. Synthèse de 3,5-dioxypyrazolidines | 12 |
| I. 5. Réactions des dérivés 1,3-disubstitué-5-pyrazolones) | 13 |
| I. 5. Réactions des dérivés 1,3-disubstitué-5-pyrazolones) | 13 |
| I. 5. 2. Réactions avec les amides | 14 |
| I. 5. 3. Réactions d'alkylation des pyrazolones | 14 |
| I. 5. 4. Réactions d'acylation des pyrazolone | 16 |
| I. 5. 5. Réaction de Mannich des pyrazolones | 17 |
| I. 5. 6. Réactions des pyrazolones avec les amines aromatiques | 17 |
| I. 5. 7. Réactions des pyrazolones avec l'acide nitreux | 18 |
| I. 5. 8. Réactions des pyrazolones le pentasulfure de phosphore | 18 |
| I. 5. 9. Réactions de formylation des pyrazolones | 18 |
| I. 5. 10. Réactions de nitration des pyrazolones | 19 |
| I. 5. 11. Réactions de sulfonation des pyrazolones | 20 |
| I. 5. 12. Réactions d'halogénéation des pyrazolones | 20 |
| I. 5. 13. Réactions d'oxydation des pyrazolones | 20 |
| I. 5. 14. Réactions de réduction des pyrazolones | 21 |
| I. 5. 15. Réactions de couplage des pyrazolones avec les sels de diazonium | 22 |
| I. 6. Applications des pyrazolones | 22 |
| I. 6. 1. Applications pharmaceutiques | 22 |

| | |
|--|----|
| I. 6. 2. Pyrazolones colorants et pigments | 22 |
| I. 6. 3. Application en chimie analytique | 23 |
| I. 7. Conclusion | 23 |
| Références Bibliographiques | 25 |

CHAPITRE II. Etude bibliographique sur l'activité biologique

| | |
|---|----|
| II. 1. Introduction | 31 |
| II. 2. Activité biologique | 31 |
| II. 2. 1. Activité anti-oxydante | 31 |
| II. 2.1. 1. Définition de stress oxydant | 31 |
| II. 2. 1. 2. Origine du stress oxydatif | 32 |
| II. 2. 1. 3. Mécanismes pro-oxydants | 32 |
| II. 2. 1. 4. Définition d'un radical libre | 33 |
| II. 2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques | 33 |
| II. 2. 2. 1. Rôles biologiques des radicaux libres | 33 |
| II.2.2.2. Les conséquences du stress oxydant | 33 |
| II. 2. 3. Les antioxydants | 34 |
| II. 2. 3. 1. Classification des antioxydants | 34 |
| II. 2. 3. 1a. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action | 34 |
| II. 2. 3. 1b. Classification des antioxydants suivant la nature chimique | 35 |
| II. 2. 3. 2. Mécanisme d'action des antioxydants | 36 |
| II. 2. 3. 3. Evaluation de l'activité antioxydante | 36 |
| II .2.3.4. Test du piégeage du radical libre DPPH | 36 |
| II .2.3.5. Expression des résultats | |
| II .2 .3.6 Calculs des concentrations inhibitrices à 50% "IC50" | 37 |
| II. 2. 4. Activités antibactérienne | 38 |
| II. 2. 4. 1. Les bactéries | 38 |
| II. 2. 4. 1a. Bactéries à gram négatif | 39 |
| II. 2. 4. 1b. Bactéries à gram positif | 40 |
| II.2.5. Lecture des résultats | 41 |
| II. 3. Pyrazolone antioxydant et antibactérien | 41 |
| Référence bibliographique | 43 |

Chapitre III: synthèse et évaluation biologique des pyrazolones

| | |
|----------------------|----|
| III. 1. Introduction | 47 |
|----------------------|----|

| | |
|--|----|
| III. 2. Description générale de synthèse des pyrazolones | 47 |
| III. 2. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) | 47 |
| III. 2. 2. Synthèse des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques | 58 |
| III. 2. 3. Copulation des sels de diazonium avec le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) | 50 |
| III. 2. 4. Protocoles expérimentales de la synthèse des pyrazolones | 51 |
| III. 2. 4. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) | 51 |
| III. 2. 4. 2. Synthèse des sels diazonium par diazotation des amines aromatiques | 52 |
| III. 2. 4. 3. Synthèse des dérivés azoïques par copulation des sels de diazonium avec le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) | 52 |
| III. 3. Évaluation de l'activité biologique des pyrazolones | 55 |
| III. 3. 1. Evaluation de l'activité antioxydante | 55 |
| III. 3. 1. 1. Test du piégeage du radical libre DPPH | 55 |
| III. 3. 1. 2. Résultats et discussions | 56 |
| III. 3. 1. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne | 65 |
| III.3.1.2.1. Les souches testées | 65 |
| III.3.1.2.2. Préparation des puits | 65 |
| III.3.1.2.3. Préparation de l'inoculum | 66 |
| III.3.1.2.4. L'ensemencement | 66 |
| III .3.1.2.5. L'application des puits | 67 |
| III .3.1.2.6. Lecture des résultats | 68 |
| III.4. Discussion des résultats | 69 |
| Référence bibliographique | 71 |
| Conclusion | 72 |

Liste des abréviations

| Abréviation | Signification |
|--------------------|---|
| ERO | Les espèces réactives d'oxygène |
| EOA | Les espèces oxygénées activées |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| RMN | Résistance magnétique |
| DMSO | Dimethylsulfoxyde |
| DRX | Spectroscopier de masse |
| SOD | Superoxyde dismutase |
| CAT | la catalase |
| BHA | Butylhydroxyanisole |
| BHT | Butylhydroxytoluène |
| PG | Gallate propylée |
| NAD(P) | Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate |
| GSH | La glutathion réduit |
| BHA | L'hydroxyanisolebutylé |
| DPPH | 2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl |
| ED | 5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazolone(Edaravone) |
| ANI | (E)-5-méthyl-2-phényl-4-(phényldiazenyl)-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one |
| OPH | (E)-4-((2-hydroxyphényl)diazenyl)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one |
| MPH | (E)-4-((2-hydroxyphényl)diazenyl)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one |
| PPH | (E)-4-((4-hydroxyphényl)diazenyl)-5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one |
| OA | (E)-2-((3-méthyl-5-oxo-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid |
| MA | (E)-3-((3-méthyl-5-oxo-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid |
| PA | (E)-4-((3-méthyl-5-oxo-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid |
| SULF | (E)-3-hydroxy-4-((3-méthyl-5-oxo-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)naphthalene-1-sulfinic acid |
| TOL | 4,4'-((1E,1'E)-(3,3'-diméthyl-[1,1'-biphényl]-4,4'-diyl)bis(diazeno-2,1-diyl))bis(5-méthyl-2-phényl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one) |
| ACET | acétophénone |

Liste des tableaux

Chapitre I. Pyrazolones : Propriétés, Synthèse, Réactivité et Applications

| | |
|--|----|
| Figure. I. 1.1. Structures possibles des pyrazolones | 3 |
| Figure. I.1. 2. Quelques produits pharmaceutiques à base de pyrazolone | 3 |
| Figure. I. 1.3. Colorant à base de pyrazolone (Pyrazolone orange (PO13)) | 4 |
| Figure. I.3.1. Formes tautomères des pyrazolones | 5 |
| Figure. I.3.2. Formes tautomères imine –énamine | 6 |
| Figure. I. 3.3. Formes tautomères imine- iminium | 7 |
| Figure. I. 3.4. Formes tautomères dans les pyrazolones azoïques | 8 |
| Figure. I. 3.5. Formes tautomères céto-énol | 9 |
| Figure. I. 3.6. Dérivés pyrazolones sous forme énol | 9 |
| Figure. I. 4. 1. Synthèse de 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones | 10 |
| Figure. I.4.2.1. Synthèse de 1-aryl-5-pyrazolone-3-carboxyliques | 10 |
| Figure. I.4.2.2. Synthèse de pyrazolone-3-carboxylate | 10 |
| Figure. I. 4. 3. Synthèse des 3-aryl-1-méthyl-5-pyrazolones (isopyrazolones) | 11 |
| Figure. I. 4. 4. Synthèse des 4-amino-1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones | 11 |
| Figure I. 4. 5.1. Synthèse 5-iminopyrazolones | 12 |
| Figure I.4.5.2 synthèse d'un imino pyrazolone | 12 |
| Figure I. 4. 6. Synthèse de dioxo pyrazolones | 13 |
| Figure I. 5. 1. Réactions de condensation avec les aldéhydes | 13 |
| Figure I. 5. 2. Réactions avec les amides | 14 |
| Figure I. 5. 3. 1. Réactions C-alkylation des pyrazolones | 14 |
| Figure I. 5. 3.2. Réactions N-alkylation des pyrazolone | 15 |
| Figure I. 5. 3.3. Réactions C- alkylation des pyrazolones | 15 |
| Figure I. 5.3.4. Réaction des pyrazolones avec ortho-esters | 15 |
| Figure I. 5. 3.5. Réaction des pyrazolones avec les cétones α , β -insaturées | 15 |

| | |
|---|----|
| Figure I. 5.3.6 La synthèse de colorants mérocyanine à partir des 2-pyrazolones | 16 |
| Figure I. 5.4.1. Réactions C-acylation des pyrazolone | 16 |
| Figure I.5.4.2. Réactions O-acylation des pyrazolone | 16 |
| Figure I.5.4.3. Réaction des pyrazolones avec l'anhydride phtalique | 17 |
| Figure I. 5.4.4. Cyanoéthylation de pyzaolone | 17 |
| Figure I. 5.5. Réaction de Mannich des pyrazolones | 17 |
| Figure I. 5.6 Réactions des pyrazolones avec les amines aromatiques | 17 |
| Figure I. 5.7. Réactions des pyrazolones avec l'acide nitreux | 18 |
| Figure I. 5.8. Réaction de sulfuration des pyrazolones | 18 |
| Figure I. 5.9.1 Réactions de formylation des pyrazolones | 18 |
| Figure I. 9.2. La formylation de Vilsmaier-Haak de pyrazolone | 19 |
| Figure I. 5.10.1 Réactions de nitration des pyrazolones | 19 |
| Figure I. 5.10.2 Réactions de nitration des pyrazolones avec $\text{HNO}_3 / \text{H}_2\text{SO}_4$ | 19 |
| Figure I. 5.10.3 Réactions de nitration des pyrazolones avec un excès de mélange d'acides nitrique | 20 |
| Figure I. 5.10.4 Réactions de nitration des pyrazolones avec nitrate d'amyle | 20 |
| Figure I. 5. 11. Réactions de sulfonation des pyrazolones | 20 |
| Figure I. 5. 13. Réactions d'oxydation des pyrazolones | 21 |
| Figure I. 5. 14..1. Réactions de réduction des pyrazolones | 21 |
| Figure I. 5. 14.2. Réactions de réduction des pyrazolones par le zinc | 21 |
| Figure I. 5. 14.3. Réactions de réduction des pyrazolones avec LiAlH_4 | 21 |
| Figure I. 5. 15. Réactions de couplage des pyrazolones avec les sels de diazonium | 22 |
| Figure I. 6. 2 : Structure de PO13, pyrazolone orange | 23 |
| <u>Chapitre II.</u> Etude bibliographique sur l'activité biologique | |
| Figure II .1 Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant | 37 |
| Figure II.2 Appareil de spectrophotométrie | 38 |

| | |
|---|----|
| Figure. II. 3. (A) Bactéries à gramme positive, (B) Bactéries à gramme positive | 39 |
| Figure. II.4. Vue sous le microscope électronique de bactérie Escherichia coli | 39 |
| Figure. II. 5. Infection à Staphylococcus aureus | 39 |
| Figure. II. 6. Illustration de colonie de la bactérie Staphylococcus aureus | 40 |
| Figure.II.7. Quelques exemples de l'activité biologique | 41 |

Chapitre III. Synthèse et évaluation biologique de pyrazolones

| | |
|---|----|
| Figure III.1. : Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution, éthanolique de l'edaravone (ED) | 61 |
| Figure III.2. : Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED)et ses dérivés (M, O, PPHOH) | 61 |
| Figure III.3. : Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED) et ses dérivés (M ,O,P A) | 62 |
| Figure III.4. : Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED) et ses dérivés (Aniline,O-Tolidine) | 62 |
| Figure III.5. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED) et ses dérivés (ACET, SULF,4A4N PPH) | 63 |
| Figure III.6. Variation d'IC50 en fonction des dérivés pyrazolones | 65 |
| Figure III.7. Représentation des puits | 66 |
| Figure III.8. Préparation de l'inoculum | 66 |
| Figure III .9. Protocole expérimental | 67 |
| Figure III.10. Résultat de l'activité antibactérienne | 69 |

Liste des schémas

CHAPITRE III. Synthèse et évaluation biologique

| | |
|---|----|
| Schéma III. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) | 47 |
| Schéma. III. 2. Mécanisme de formation 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) | 48 |
| Schéma. III. 3. Synthèse des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques | 49 |
| Schéma. III. 4. Mécanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques | 49 |
| Schéma. III. 5. Copulation des sels de diazonium le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) | 50 |
| Schéma. III.6. Mécanisme de copulation des sels diazonium l'edaravone | 51 |
| Schéma. III. 7. Mécanisme de l'inhibition des radicaux libres par l'edaravone et ses dérivés | 70 |

Liste des tableaux

Chapitre II. Etude bibliographique sur l'activité biologique

Tableau II.1. Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition 41

Chapitre III. Synthèse et évaluation biologique des pyrazolones

| | |
|---|----|
| Tableau. III. 1. Edaravone et dérivés azoïques synthétisés | 53 |
| Tableau. III. 2. Le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de L'edaravone (ED) | 56 |
| Tableau. III. 3. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de PPH | 56 |
| Tableau. III. 4. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'OPH | 57 |
| Tableau. III. 5. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de MPH | 57 |
| Tableau III.6. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de TOL | 57 |
| Tableau III.7. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations d'ANI | 58 |
| Tableau III .8. L'absorbance et le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de PA | 58 |
| Tableau III.9. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de MA | 58 |
| Tableau III.10. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations d'OA | 59 |
| Tableau III.11. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'ACET | 59 |
| Tableau III. 12. le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de 4A4N | 59 |
| Tableau III.13. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations deSULF | 60 |
| Tableau. III.14. Valeurs d'IC 50 des pyrazolones synthétisés | 64 |
| Tableau III .15. Les souches testées pendant l'évaluation des activités antibactérienne | 65 |
| TableauIII.16. Diamètre de la zone d'inhibition | 68 |

Chapitre II. Etude bibliographique sur l'activité biologique

Tableau II.1. Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition⁴¹

Chapitre III. Synthèse et évaluation biologique des pyrazolones

| | |
|---|----|
| Tableau. III. 1. Edaravone et dérivés azoïques synthétisés | 53 |
| Tableau. III. 2. Le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de L'edaravone (ED) | 56 |
| Tableau. III. 3. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de PPH | 56 |
| Tableau. III. 4. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'OPH | 57 |
| Tableau. III. 5. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de MPH | 57 |
| Tableau III.6. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de TOL | 57 |
| Tableau III.7. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations d'ANI | 58 |
| Tableau III .8. L'absorbance et le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de PA | 58 |
| Tableau III.9. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de MA | 58 |
| Tableau III.10. Letaux d'inhibition calculée pour différentes concentrations d'OA | 59 |
| Tableau III.11. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'ACET | 59 |
| Tableau III. 12. le taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de 4A4N | 59 |
| Tableau III.13. Letaux d'inhibition calculé pour différentes concentrations deSULF | 60 |
| Tableau. III.14. Valeurs d'IC 50 des pyrazolones synthétisés | 64 |
| Tableau III .15. Les souches testées pendant l'évaluation des activités antibactérienne | 65 |
| TableauIII.16. Diamètre de la zone d'inhibition | 68 |

Introduction Générale

Introduction Générale

L'intérêt croissant pour les études biologiques des pyrazol-5-ones au cours de la dernière décennie est une conséquence de leur large utilisation en tant que classe de composés pharmaceutiquement importants. Parmi eux, Edaravone ou la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one, représente un exemple de l'un des médicaments les plus importants qui agit comme un puissant agent cérébral neuroprotecteur qui piège facilement les espèces réactives de l'oxygène et inhibe les réponses pro-inflammatoires après ischémie cérébrale dans le traitement des patients au stade aigu d'infarctus.

Les dérivés de la pyrazol-5-one et de l'edaravone ont déjà été découverts comme agents antitumoraux. Par exemple, les pyrazol-5-ones substituées par un thiadiazole ont été identifiées comme une puissante inhibiteurs du kinase dans la régulation de l'anxiogènes qui est cruciale pour la prolifération des cellules tumorales. Aussi, a également été découvert que l'edaravone elle-même renforce les effets antitumoraux du CPT-11 chez les souris ont un cancer du côlon en augmentant l'apoptose 150 et réagit également avec un dérivé de la ptérine pour produire une substance cytotoxique qui induit la génération intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène et la mort cellulaire. Un nouveau dérivé de l'edaravone, la 4,4-dichloro-1-(2,4-dichlorophényl)-3-méthylpyrazol-5-one, a été identifié comme un puissant bloqueur de la télomérase humaine et est considéré comme une substance précieuse pour le traitement médical du cancer et des maladies apparentées. Vue l'importance biologique et pharmacologique de ces dérivés à base du 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one, la chimie des edaravones a évolué d'une manière intensive dans les dernière années. En effet, L'attention particulière dans ce travail est centrée sur l'introduction des dérivés aryliques et la création de l'entité azoïque au sien des molécules qui comporte un dérivé 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one (edaravone), afin d'étudier l'évolution de l'activité biologique, notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne en fonction de la structure des dérivés azoïques contenant le motif edaravone.

Dans son ensemble l'objective globale de ce travail s'articule sur deux axes :

- 1- Synthèse et caractérisation des dérivés de pyrazolone avec l'entité azoïque et des substituants différents.
- 2- Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des pyrazolones synthétisés.

Donc, ce travail comporte trois chapitres :

Chapitre. I. Est consacré à une recherche bibliographique qui porte sur les dérivés pyrazolones, leurs propriétés, leurs synthèse, ainsi que leurs réactivité vis-à-vis les

Introduction Générale

électrophiles. Le chapitre. I, présente également quelques applications des pyrazoles dans la chimie et dans la biologie.

Chapitre. II. Présente un aperçu générale sur l'activité biologique, plus particulièrement l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne avec des exemples récents sur les propriétés biologiques et pharmacologiques des dérivés pyrazoloniques.

Chapitre. II. La synthèse organique de l'edaravone et les dérivés pyrazolones, les testes biologiques de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne sont donnés dans ce chapitre avec les discussions des résultats.

CHAPITRE I

Pyrazolones

Propriétés, Synthèse, Réactivité et Applications

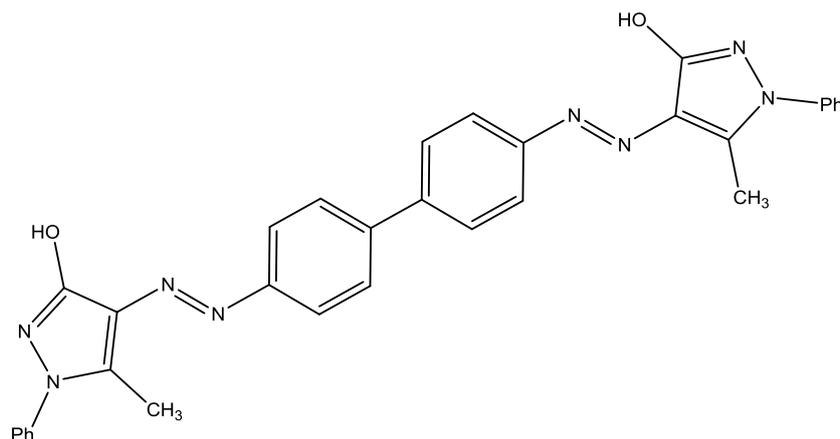


Figure. I. 1. 3. Colorant à base de pyrazolone (Pyrazolone orange (PO13))

La plupart des pyrazolones sont des solides de couleur caractéristique avec des points de fusion qui dépassent 100 °C et diminuent en présence des substituants en (N-1). Les pyrazolones simples de faible poids moléculaire sont solubles dans l'eau chaude, alors que les dérivés pyrazolones ont un poids moléculaire élevé sont solubles dans la plupart des solvants organiques. La liaison hydrogène a forte influence sur la forme tautomérique prédominante. Les pyrazolones possèdent à la fois un caractère basique et acide, le caractère faiblement acide en général prédomine, ils peuvent donc être titrés avec des bases fortes. Cependant, certaines pyrazolones peuvent également être titrés à l'acide perchlorique dans l'acide acétique glacial. La plupart des pyrazolones sont facilement solubles dans les solutions alcalines.

I.2. Formes tautomériques des pyrazolones

La tautomérie des composés pyrazoloniques présente un défi important pour les chimistes organiciens en raison de son importance dans les systèmes biologiques, la réactivité chimique et la reconnaissance moléculaire. Pour cette raison, il a été largement étudié au cours des dernières décennies. En particulier, le problème de la tautomérie des pyrazolinones a fait l'objet d'un grand nombre d'études.

I. 3. Dérives 3-Pyrazol-5-ones substitué :

Dans cette classe de composés, il existe trois principales catégories de tautomères, forme énol (OH (**4**)), forme cétohydrazone (CH (**5**)) et forme cétohydrazine (NH (**6**)). Bien que des travaux considérables ont été rapportés sur ces composés, beaucoup d'entre eux étaient, ou semblaient être, contradictoires. Récemment, le modèle complexe de la tautomérie qui se produit dans cette série devient claire [4].

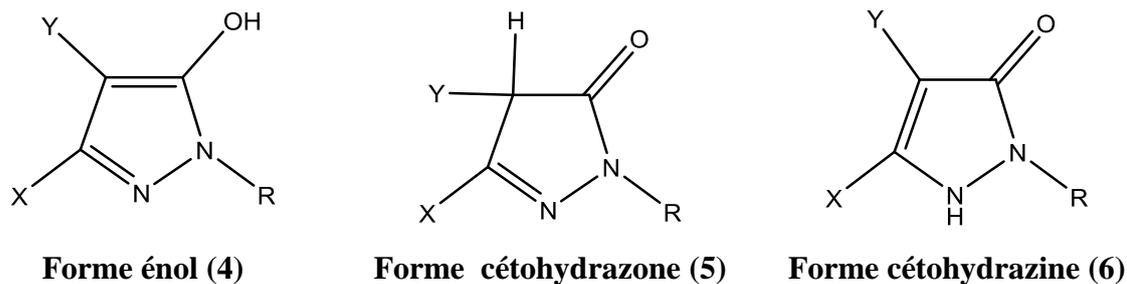


Figure. I. 3. 1. Formes tautomères des pyrazolones

Dès 1895, Knorr comprit que trois types de dérivés pouvaient être formés correspondant aux trois structures tautomères ci-dessus [5]. D'autres chercheurs ont attribué un oxo structure de ces composés sur la base de expériences chimiques [6], tandis que d'autres encore discuté de la tautomérie sans parvenir à des conclusions définitives [7].

Katritzky [8], Elguero [9], et Dorn [10] ont mené des enquêtes approfondies sur la tautomérie de diverses pyrazolones par spectroscopie UV-visible, IR et RMN et mesure des valeurs de pK, il a été montré que pour les 1,3-disubstituées-5-pyrazolones en solution aqueuse la forme (NH) est en équilibre avec la forme (OH). Tandis que, dans les solvants tels que le tétrachlorure de carbone ou le cyclohexane la forme (CH) prédomine. Les pyrazol-5-ones non substituées existent exclusivement sous forme (OH) dans le diméthylsulfoxyde. Les groupes électrons donneurs en C-3 déplacent l'équilibre vers la forme CH.

Evans et al [11] ont mené des enquêtes similaires et sont parvenus à des conclusions similaires, les plus étant important: la RMN ^1H est un outil exceptionnel pour identifier et quantifier les tautomères (CH), mais il est incapable de différencier les (OH) et (NH). D'autres méthodes sont nécessaires, pas seulement d'autres spectroscopies mais aussi mesure des équilibres acido-basiques, pKa. Le prédominant tautomère (et dans une vue plus quantitative, les constantes d'équilibre) dépend fortement du solvant et bien que moins, également sur la concentration et la température. Depuis différentes méthodes utilisent des solvants et des concentrations différentes (la RMN est une technique relativement insensible et utilise des solutions concentrées) il faut être prudent lors de la comparaison des résultats obtenus par différents méthodes.

Des études de la chimie quantique sur la tautomérie de la 1-méthylpyrazolin-5-one ont été menées à l'aide du HF / 6-31G * (théorie de Hartree-Fock utilisant un ensemble de base de taille moyenne) montrent que l'ordre de la stabilité est: (CH > NH > OH). Aussi, l'étude de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT); a montré que le tautomère (CH) a la plus faible

énergie à l'état fondamental parmi les trois tautomères des pyrazoline-5-ones 1-substituées possibles [11], [12a].

Les RMN ^{13}C et ^{15}N ont été utilisées pour étudier la tautomérie du 1-méthyl-3-phényl-5-pyrazolone dans CDCl_3 , le seul tautomère observé était la structure (CH). Dans le DMSO, le tautomère mineur est la structure (CH) et le principal un mélange de structure (OH) et (NH) en équilibre. Ainsi, les contributions globales à ces structures à 303 K en solution DMSO sont (CH: OH: NH = 20:47:33%) [14].

Autres techniques ont été utilisées comme la spectroscopie DRX ou la RMN ^{13}C pour explorer que seuls les tautomères aromatiques (5 et 6) ont été détectés dans le cas du 1-phényl-3-méthyl, 1-p-bromophényl-3-méthyl et 1-(2-pyridyl)-3-méthyle [15]. Ce comportement semble être général pour les pyrazolin-5-ones 1-aryl-substituées. Une approche similaire a été utilisé par Kleinpeter et Koch [16] pour le cas de la 1-phényl-3-méthylpyrazolin-5-one mais en utilisant uniquement ^{13}C RMN avec calculs GIAO / HF 6-31G **. Ils ont conclu qu'il y a un mélange de tautomères (OH) et (NH), le tautomère (OH) étant le plus peuplé.

- Biquard et Grammaticakis [17] ont rapporté que les spectres ultraviolets du 3-méthyl- et 3,4-diméthyl-1-phénylpyrazol-5-one étaient intermédiaires entre ceux des dérivés méthylés du (CH) (7, R = R₁ = Me) et (NH) (8, R = Me, R₁ = H ou Me) des composés, concluant que les composés existent sous forme de mélanges de ces formes tautomères. Cependant, ils n'ont pas considéré l'apparition possible d'une forme (OH).

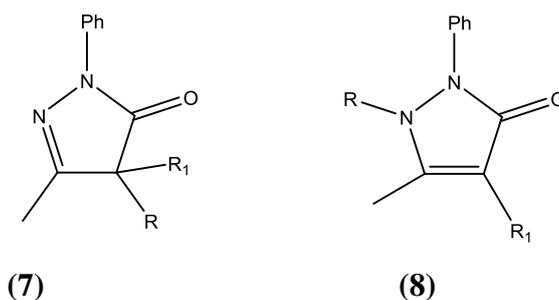


Figure. I. 3. 2. Formes tautomères imine –énamine

Les spectres présentés par de nombreuses pyrazolones ont été étudiés de manière intensive par Gagnon et son collègue de travail. Ces auteurs ont établi un lien entre la position de la double liaison dans le cycle pyrazolone, la longueur d'onde et l'intensité de l'absorption. Il a été constaté qu'un maximum d'intensité élevée à courte longueur d'onde correspond à une double liaison entre les deux atomes de carbone 3 et 4, tandis que le maximum de faible intensité à grande longueur d'onde indiquait une liaison unique entre ces

deux atomes de carbone. On a montré qu'un composé peut donner deux formes tautomères au maximum [18]. Les spectres infrarouges des composés cristallins ont été étudiés par plusieurs chercheurs. Carpino [19] a constaté que les pyrazol-5-ones 4,4-disubstituées présentent une bande d'absorption dans la région ($1780-1710\text{ cm}^{-1}$) du spectre, mais les composés non substitués que les composés monosubstitués en position 4 n'ont pas montré cette bande d'absorption, c'est-à-dire, les deux derniers types de composés doivent exister sous forme (NH) ou (OH).

Les spectres infrarouges de plusieurs pyrazolones ont été interprétée sur la base de la formulation par un groupe allemand [20], mais cette formulation a été questionné [19,21]. Affiner [22] a conclu des études spectrales infrarouges qu'une série de 1, 3-disubstitués les pyrazol-5-ones existent sous la forme (OH) ($R = \text{Me}$ ou aryle) à l'état cristallin, et il était plus loin ont conclu à partir des données de pKa que des quantités approximativement égales des formes (NH) et (OH) existent dans solution aqueuse. D'autres chercheurs ont discuté de l'acidité et de la basicité de la pyrazolone avec référence à sa forme tautomérique [23].

Janssen [21] a constaté que la 1-phényl-3-méthylpyrazol-5-one présentait des bandes d'absorption infrarouge à 1705 et 1625 cm^{-1} en solution de chloroforme, démontrant son existence au moins une partie sous forme (CH); en plus de ces bandes, une autre bande est observée à 3610 cm^{-1} dans l'acétonitrile, conduisant à la suggestion qu'un mélange de formes (CH) et (OH) existe dans ce dernier solvant. Le spectre de composé solide a été considéré comme étant en accord avec la forme (NH) ou (OH), fortement hydrogène lié [21]. Un groupe allemand [24] a également étudié les spectres infrarouges de ce composé et de dérivé 4-méthyl a conclu que les composés existent sous forme (CH) en solution chloroformique et en la forme (OH) à l'état solide. Il a été démontré que la 1-(2,4-dinitrophényl)-3-phénylpyrazol-5-one existe sous forme (CH) dans une solution chloroformique utilisant la RMN et la spectroscopie infrarouge [25].

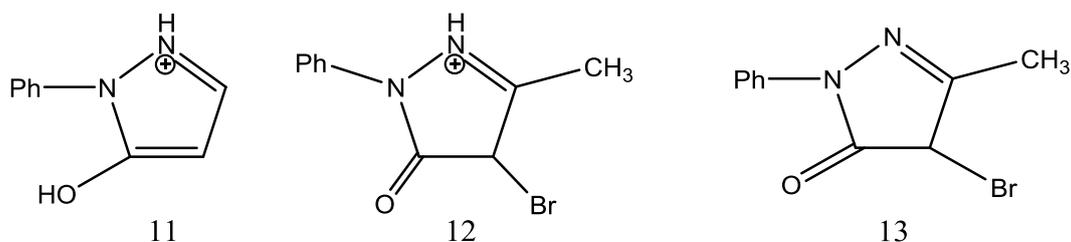


Figure. I. 3. 3. Formes tautomères imine- iminium

Les spectres ultraviolets des 1-phénylpyrazol-5-ones, en particulier les dérivés bromo, étaient étudiée par Westoo [26a]. Il a conclu que les monocations étaient généralement de structure **11**, mais le monocation de la bromoantipyrine était en équilibre avec **12** dans certaines circonstances. Le spectre de la 4-bromo-3-méthyl-1-phénylpyrazol-5-one correspond à celui de son dérivé 4-méthyl dans le chloroforme, suggérant qu'il existe en tant que **13** dans ce solvant, mais le spectre dans l'éthanol est fortement modifié, indiquant qu'une autre forme prédomine dans ce dernier solvant.

Lorsque le substituant en position 4 est capable de se conjuguer avec les doubles liaisons du cycle, il peut participer à la tautomérie; cela se produit avec les groupes azo, carbonyle (aldéhydes et cétones) et ester. Pour les colorants avec 4-arylazopyrazolones, la structure azoïque **16** doit être attendue d'un point de vue [26b], Une approche alternative en ce qui concerne une tautomérie possible nécessite non seulement deux formes tautomères **14-17** à considérer pour l'équilibre. Il a maintenant été définitivement établi que [27,28] le colorant existe sous forme de tautomère hydrazone **15** avec liaison d'hydrogène intramoléculaire entre les groupes (CO) et (NH). Les spectres infrarouges des 4-arylazopyrazolones ont été successivement interprétés pour soutenir des structures **14** [29 a,b] **14** ou **15** [29c] et **16** [24].

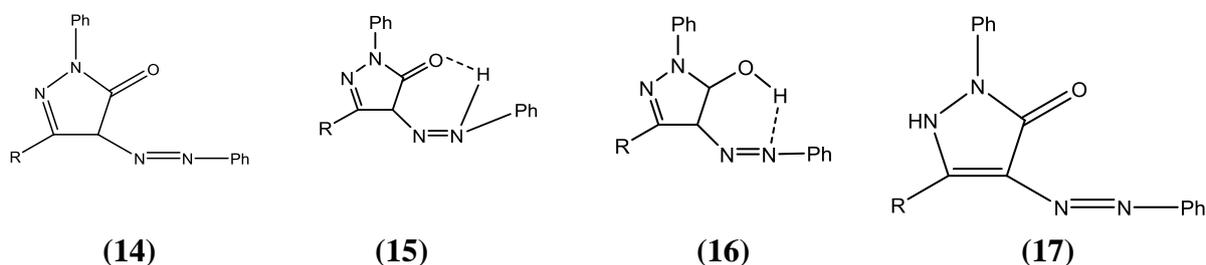


Figure. I. 3. 4. Formes tautomères dans les pyrazolones azoïques

La structure de cette espèce a également attribué au tautomère d'hydrazone **15** sur la base des données RMN [30]. Les formes «hybrides» **14** et **17**, cependant, ont été exclues il y a de nombreuses années par la première étude RMN (dans le spectre RMN ^1H de certains dérivés arylazoïques du 1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone, les signaux dus aux protons (CH) et (NH) non impliqués dans la liaison hydrogène étaient absents) [27a, b]. A partir de la valeur du déplacement chimique du proton participant à la liaison hydrogène NH / OH ($\delta\text{H} = 13,5\text{-}13,8$ ppm [27a, c]) et les variations du spectre RMN ^1H du composé lorsqu'il a subi une N- et O-méthylation, il a été possible de conclure en outre que sur les deux formes tautomères plus traditionnelles **16** et **15**, la forme céto **15** se produit en fait dans l'arylazodérivés de la 5-

pyrazolone [27a,c,d] ceci a été obtenue [27 e] par l'introduction d'un ^{15}N en position β . Dans les spectres RMN ^1H et ^{15}N dans le chloroforme, il y avait un doublet qui a suggéré l'existence d'un bonde $^{15}\text{N}-^1\text{H}$ faisant partie de la forme hydrazone 15. Les données RMN ^{13}C concordent avec ces résultats. D'autre part, les structures cristallines de deux membres de cette groupe ont été déterminés à partir desquels il a été conclu que, à l'état solide, l'hydrazone a été préférée [31a, b]. Des études théoriques ont également traité de la structure et de la tautomérie d'arylazoprazolones [31c, d]. Les substituants en position 4, tels que l'acétyle stabilisent la forme (OH) [32a] et cela a été confirmé en utilisant la RMN ^{13}C par Alderete et ses collaborateurs [32b]. Les dérivés de 4-acylpyrazol-5-one peuvent être obtenus sous deux formes cristallines le céto 18 (A) et l'énol 18 (B) du groupe acyle [7,33].

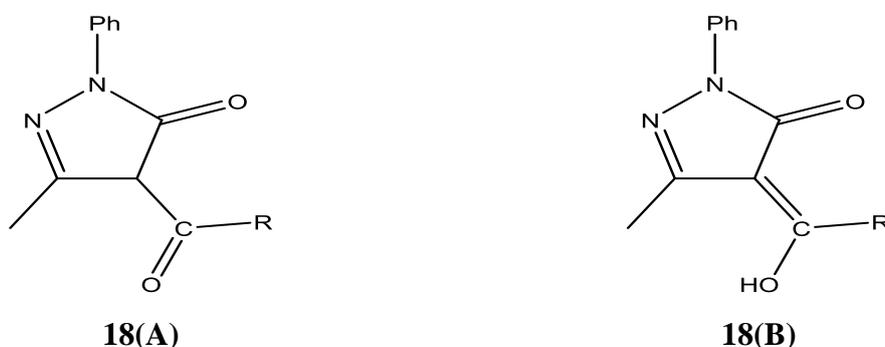


Figure. I. 3. 5. Formes tautomères céto-énol

Westoo a proposé que le composé (19) a une forme énol ($\text{C}=\text{O}$ à 1670 cm^{-1} et OH env. 2500 cm^{-1}) et d'autres preuves il a également discuté la tautomérie des composés de type (20) et(21) [34, 35].

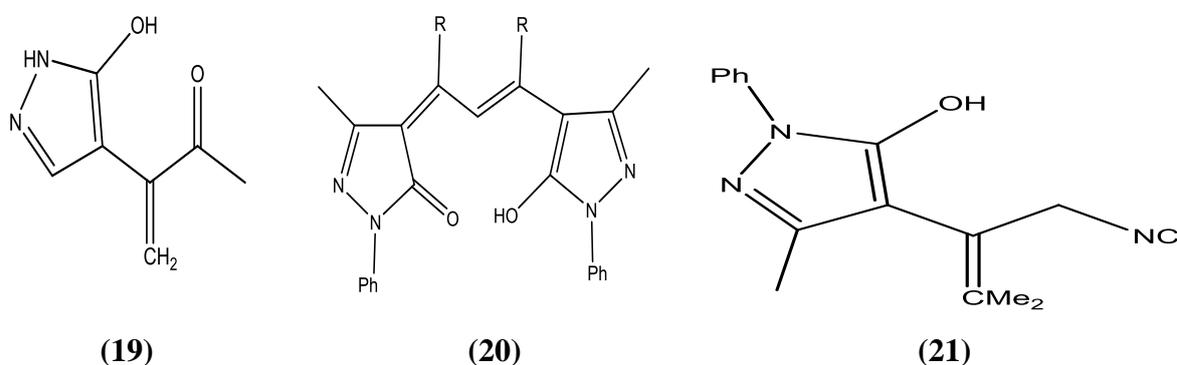


Figure. I. 3. 6. Dérivés pyrazoloes sous forme énol

I. 4. Méthodes de synthèse des pyrazolones

I. 4. 1. Synthèse de 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones

Industriellement, les 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones **23** sont préparés par réaction entre les arylhydrazines et des esters acétoacétiques (**22**) ou de l'acétoacétamide dans l'acide acétique, l'éthanol ou glycérol comme solvant [40, 41]. Cette préparation nécessite un chauffage à reflux durant 2 à 6h.

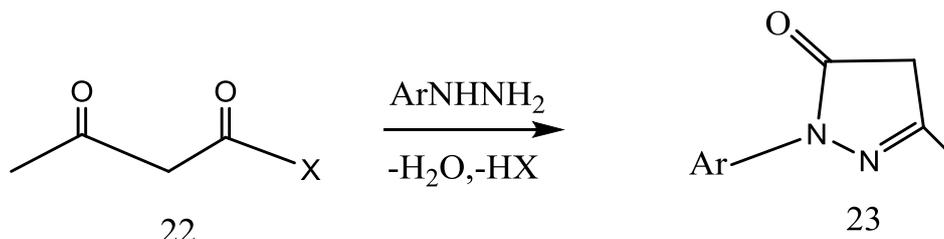


Figure. I. 4. 1. Synthèse de 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones

I. 4. 2. Synthèse Acides 1-aryl-5-pyrazolone-3-carboxyliques :

Outre l'ester acétoacétique et l'acétoacétamide, qui donne des méthyl pyrazolones, le diéthyl oxalacétate est devenu important pour la production de l'acide carboxylique correspondant de dérivés de pyrazolone (**25**) [44].

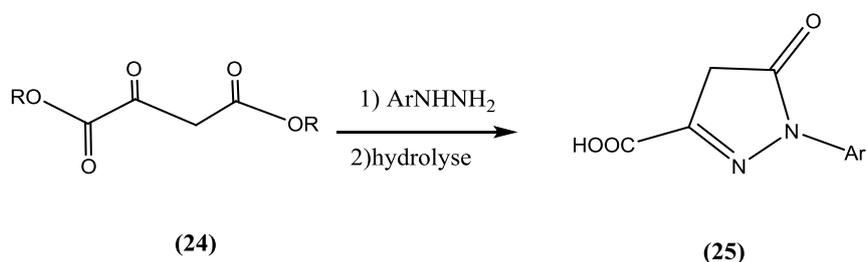


Figure. I.4. 2. 1. Synthèse de 1-aryl-5-pyrazolone-3-carboxyliques

Ces derniers composés pourraient également être obtenus par couplage direct des sels de diazonium avec esters d'acide acétylsuccinique (**26**). Les composés azoïques formés comme intermédiaires se réarrangent avec clivage du groupe acyle pour donner les dérivés de pyrazolone-3-carboxylate correspondants (**27**) [45].

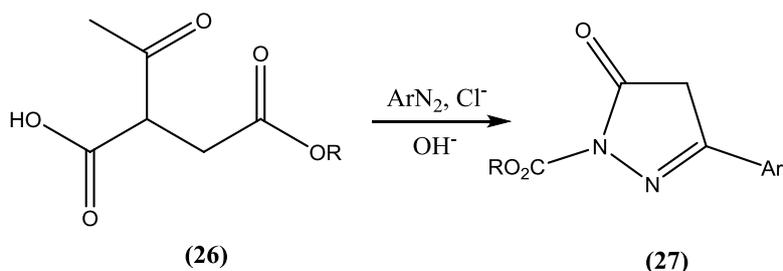


Figure. I. 4. 2. 2. Synthèse de pyrazolone-3-carboxylate

I. 4. 3. Synthèse des 3-aryl-1-méthyl-5-pyrazolones (isopyrazolones) :

Les isopyrazolones sont définies comme des composés dans lesquels les positions de l'aryle et du méthyle des dérivés 1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones sont échangés. 1-méthyl-3-phényl-5-pyrazolone (**29**), qui fond à 214 °C peut être obtenu en chauffant l'éthyl-3-oxo-3-phénylpropionate (**28**) avec méthylhydrazine [**19**].

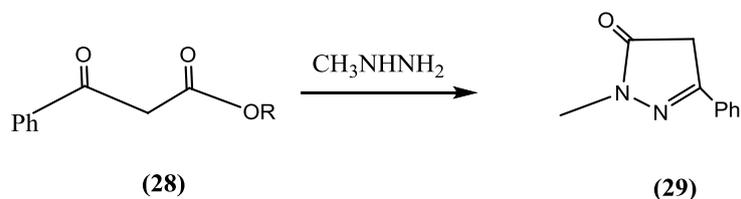


Figure. I. 4. 3. Synthèse des 3-aryl-1-méthyl-5-pyrazolones (isopyrazolones)

I. 4. 4. Synthèse des 4-amino-1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones

Les arylméthylpyrazolones réagissent avec l'acide nitreux pour donner des composés 4-isonitroso, et avec l'acide nitrique pour donner des composés 4-nitro. Les deux types de composés peuvent être réduits par l'acide chlorhydrique d'étain, le zinc dans l'acide acétique ou par hydrogénation catalytique pour donner le 4-aminopyrazolones. Le composé 4-amino peut également être produit par clivage réducteur de l'azocolorants dérivés de pyrazolones. Les 4-aminopyrazolones ne sont pas stables que sous la forme de leurs sels. Les bases libres sont très sensibles à l'oxydation. Ainsi, par exemple, le 4-amino-1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone réagit pour donner le colorant rouge de l'acide rubazonique (**30**).

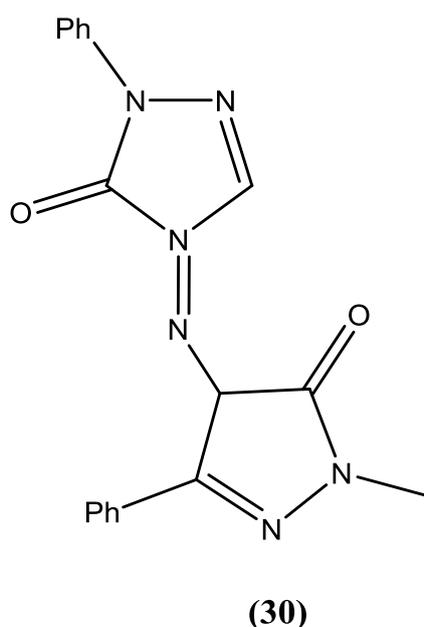


Figure. I. 4. 4. Synthèse des 4-amino-1-aryl-3-méthyl-5-pyrazolones

I. 4. 5. Synthèse 5-iminopyrazolones :

Comme l'ont montré les études spectroscopiques, ces composés sont en fait 5-aminopyrazole. Néanmoins, ils sont principalement décrits dans la littérature comme des composés imino dans analogie avec les pyrazolones. La 1-phényl-3-méthyl-5-iminopyrazolone (32) se forme lors du traitement de butadiénonitrile (31) avec phénylhydrazine dans le méthanol et présence de l'acide chlorhydrique [46].

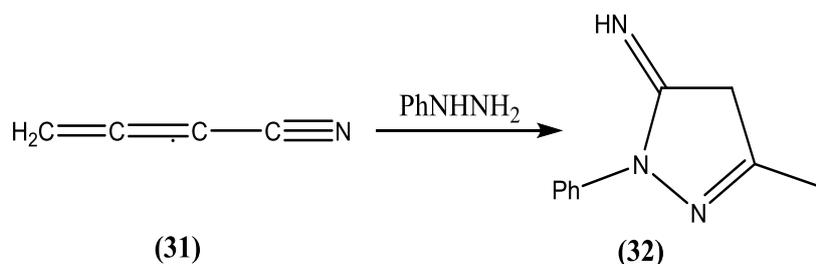


Figure I. 4. 5.1. Synthèse 5-iminopyrazolones

Une autre méthode implique la réaction des chlorures de 5-chloropyrazolium avec de l'ammoniaque ou des amines. Par exemple, la réaction de l'oxychlorure de phosphore avec l'antipyrine donne le chlorure de 5-chloro-2,3-diméthyl-1-phénylpyrazolium. Ce dernier peut être converti en imino (32) par chauffage avec de l'ammoniac ou des amines à des températures modérées. En plus, à la haute température le clivage du groupe méthyle se produit pour donner le composé imino (33) [47].

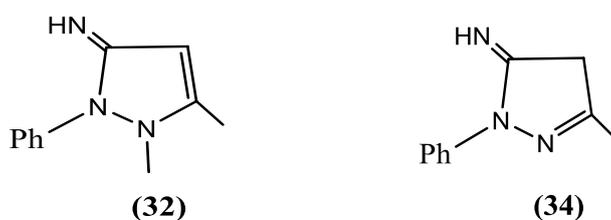


Figure I. 4. 5. 2. Synthèse d'un imino pyrazolone

I. 4. 6. Synthèse de 3,5-dioxypyrazolidines

La 1,2-diphényl-3,5-pyrazolidinedione est obtenue par condensation de maléate de diéthyle avec phénylhydrazine en présence de l'éthanolate de sodium. Le 4-Butyl-1,2-diphényl-3,5-pyrazolidinedione (phénylbutazone) (35) [48] et 4-butyl-1-(4-hydroxyphényl)-2-phényl-3,5-pyrazolidinedione (oxyphenbutazone) (36) appartient également aux dérivés pyrazolidinediones.

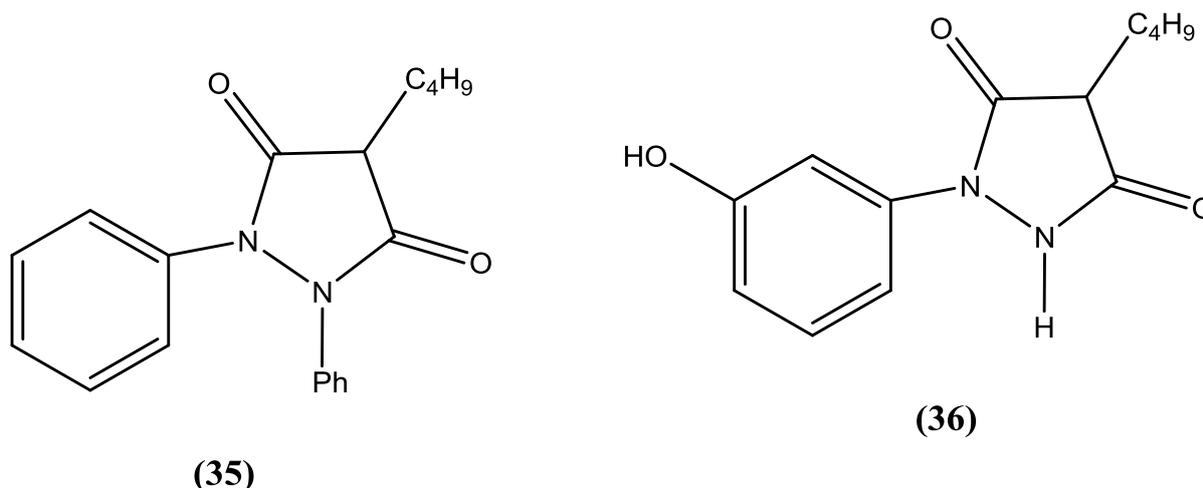


Figure I. 4. 6. Synthèse de dioxo pyrazolones

I. 5. Réactions des dérivés 1,3-disubstitué-5-pyrazolones)

Le caractère tautomérique des pyrazolones est également illustré par le mélange de produits isolé après certaines réactions. Ainsi l'alkylation a normalement lieu en C4, mais à l'occasion, elle est accompagnée d'O et N-alkylation. Des problèmes similaires peuvent survenir lors de l'acylation, qui est favorisée également en C4. De plus, les pyrazolones réagissent avec les aldéhydes, cétones ou sels de diazonium en C4.

I. 5. 1. Réactions de condensation avec les aldéhydes

Comme tous les composés avec un groupe méthylène réactif, les pyrazolones réagissent en C4 avec aldéhydes et cétones. Selon les conditions de réaction, la mono et la bispyrazolones peuvent se former. Plusieurs chercheurs ont démontré que la condensation de Knoevenagel du 3-méthyl-1- phényl-2-pyrazolin-5-one avec des aldéhydes aromatiques en présence d'un catalyseur (diacétate d'éthylènediammonium (EDDA)[49], oxyde de magnésium (MgO)[50] , bromure de lithium[51], fluorure de potassium[52],ou triéthylamine [53]) a donné le 4-benzylidène-3-méthyl-1- phényl-2-pyrazolin-5-one correspondant. En outre, cette condensation peut être effectuée efficacement sous irradiation micro-onde [54,55].

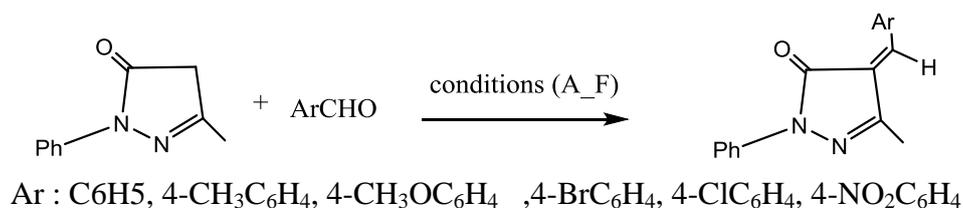


Figure I. 5. 1. Réactions de condensation avec les aldéhydes

Conditions de la réaction

- A:** Utilisation de l'irradiation micro-ondes,
- B:** Utilisation d'oxyde de magnésium dans l'acétonitrile, temps = 3 h, reflux,
- C:** Utilisation de bromure de lithium, temps = 9 min, Irradiation micro-ondes,
- D:** Utilisation de fluorure de potassium sur alumine basique dans le méthanol, T = 60-70 °C,
- E:** Utilisation de triéthylamine dans l'éthanol, chauffage,
- F:** Utilisation de diacétate d'éthylènediammonium (EDDA), reflux.

I. 5. 2. Réactions avec les amides

Comme indiqué dans la Figure. I. 5. 2. Le 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one (se condense avec divers amides (formamide , acétamide) à température élevée pour donner.

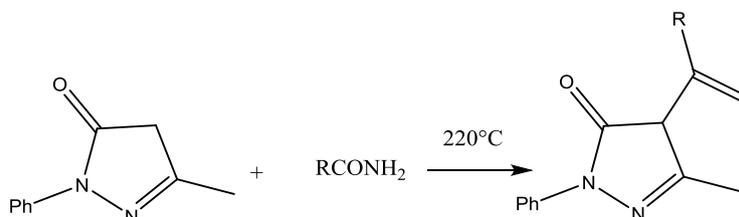


Figure I. 5. 2. Réactions avec les amides

I. 5. 3. Réactions d'alkylation des pyrazolones

Les pyrazolones peuvent également être alkylés en C-4 (C-alkylation), en N-2 (N-alkylation) et en O (O-alkylation), selon le substrat, l'agent d'alkylation et les conditions de réaction.

- a) Les pyrazolones sont alkylées en C-4 lorsqu'elles sont traitées avec des composés ayant un des atomes d'halogène réactif. La 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one réagit avec l'iodure d'alkyle en présence de méthanolate de sodium pour donner le dérivé 4-alkyle qui, lorsqu'il est traité avec un excès d'iodure d'alkyle, a donné le composé 4,4-dialkylé [56].

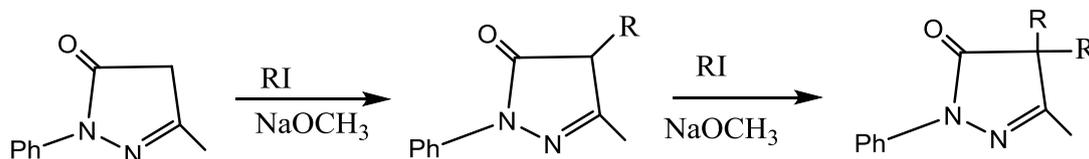


Figure I. 5. 3. 1. Réactions C-alkylation des pyrazolones

Lors de l'utilisation d'halogénures d'alkyle et en l'absence de méthanolate de sodium, N-2 prédomine. La N-2 alkylation est le produit principal et obtient exclusivement du 2,3-diméthyl-1-phényl-3-pyrazolin-5-one, à côté de 1-phényl-2, 3,4-triméthyl-3-pyrazolin-5-one

[57,58]. Cependant, l'alkylation à une température comprise entre 100-130 °C, avec ou sans catalyseurs basiques, 2-pyrazolin-5-one peut être converti en 2-alkyl-3-pyrazolin-5-one [59].

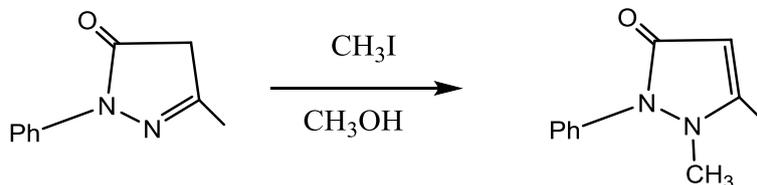


Figure I. 5. 3. 2. Réactions N-alkylation des pyrazolone

La 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one condensé avec de l'acétone dans de l'alcool isopropylique et hydrogénation simultanée en utilisant Ni de Raney (ou Co) à 60-70 °C à 1,5 atm pour donner le 4-isopropyl-3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one. L'addition de NH^3 ou d'amine a accéléré la réaction [60].

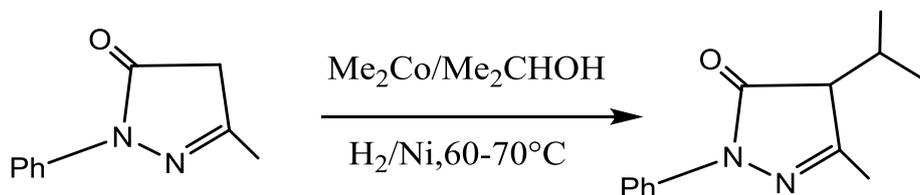


Figure I. 5. 3. 3. Réactions C- alkylation des pyrazolones

b) La N-méthylation a été réalisée en utilisant du sulfate de méthyle et de l'hydroxyde de sodium [61], p-toluènesulfonate de méthyle et l'oxyde de calcium, sulfate de diméthyle [62].

c) Réaction des alkylates d'ortho-esters avec les pyrazolones est principalement produites en C-4 [63].

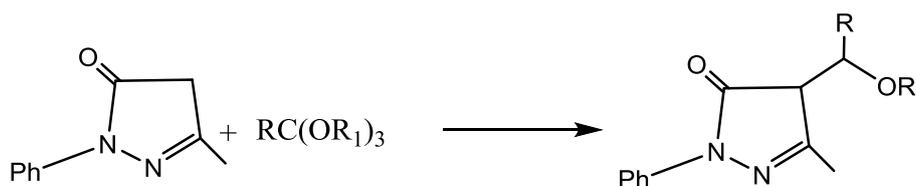


Figure I. 5. 3. 4. Réaction des pyrazolones avec ortho-esters

d) Les cétones α, β -insaturées sont condensées avec les 2-pyrazolin-5-ones pour donner le produit de l'addition de Michael [64].

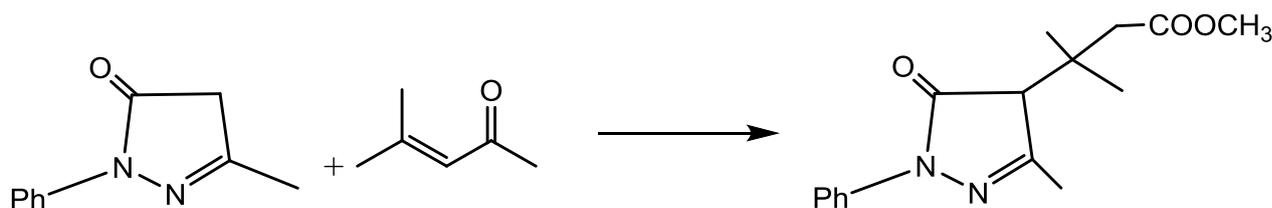
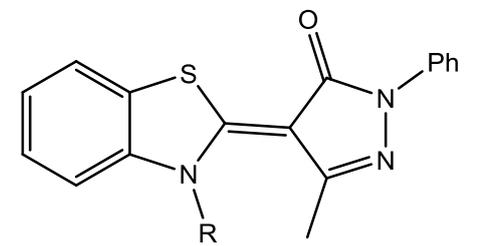


Figure I. 5. 3. 5. Réaction des pyrazolones avec les cétones α, β -insaturées

e) La synthèse de colorants mérocyanine tels que  est l'une des réactions d'alkylation les plus importantes des 2-pyrazolones [64].

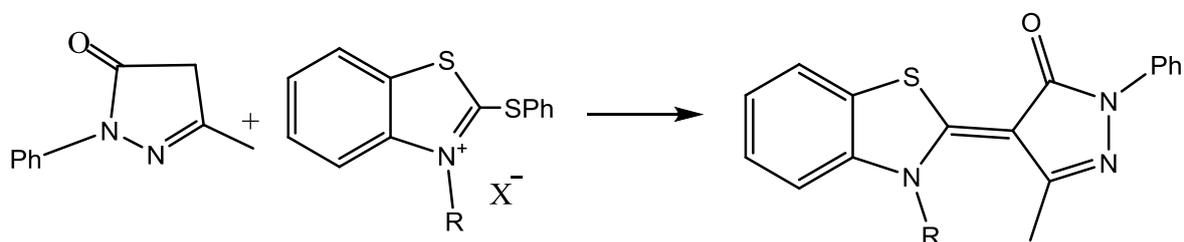


Figure I. 5. 3. 6 La synthèse de colorants mérocyanine à partir des 2-pyrazolones

I. 5. 4. Réactions d'acylation des pyrazolone

Une acylation très rapide des 1,3-disubstituées-5-pyrazolones peut se produire avec chlorure d'acétyle en présence de monoxyde de calcium dans le dioxane a donné le composé 4-acétylé [65].

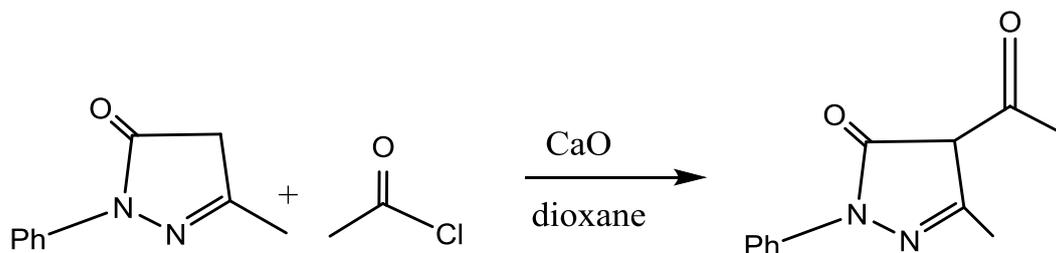
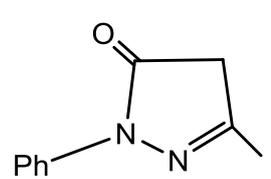


Figure I. 5. 4. 1. Réactions C-acylation des pyrazolone

De plus, une O-acylation de  peut se produire avec du chlorure de benzoyle en présence de la triéthylamine en tant que base dans le chloroforme [66] ou sous irradiation micro-onde [67] pour donner l'ester.

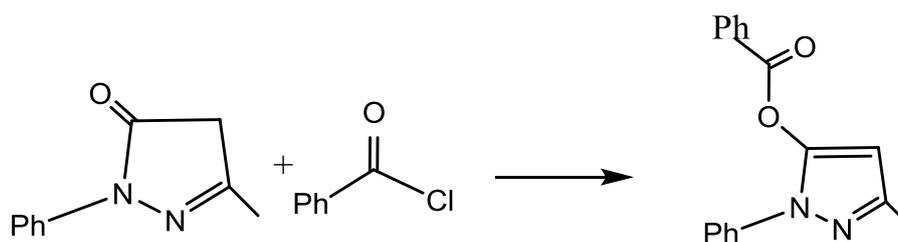


Figure I. 5. 4. 2. Réactions O-acylation des pyrazolone

L'acylation peut être effectuée par des anhydrides. L'anhydride phtalique [68,69] réagit avec le 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one donnant probablement le produit acylé qui réagit spontanément avec un deuxième molécule de pyrazolinone donnant le méthylidène bis (3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one).

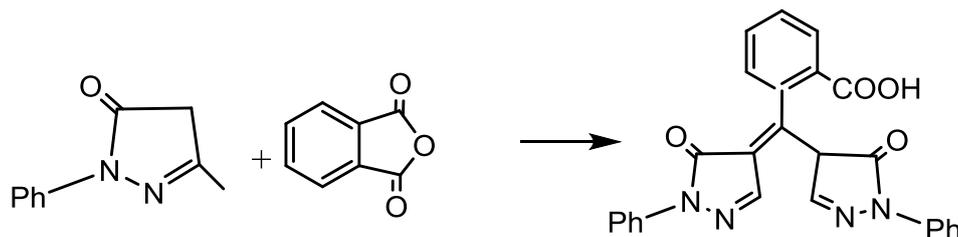


Figure I. 5. 4. 3. Réaction des pyrazolones avec l'anhydride phtalique

Le composé subit une cyanoéthylation en utilisant de l'acrylonitrile, pour ne donner le dérivé 4,4-bis-(β cyanoéthyl) pyrazolone..

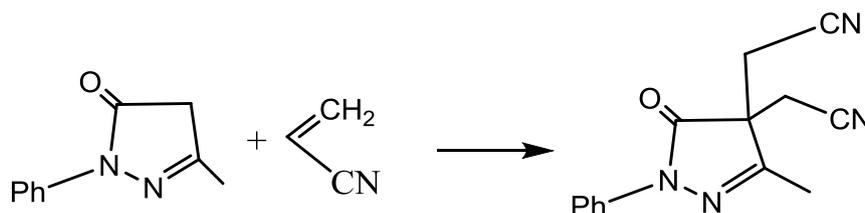


Figure I. 5. 4. 4. Cyanoéthylation de pyzaolone

I. 5. 5. Réaction de Mannich des pyrazolones

Traitement de 2-pyrazolin-5-one avec des amines secondaires en présence de formaldéhyde via la réaction de Mannich a donné le dérivé 4-dialkyl aminométhyle pyrazolone correspondant par élimination d'une molécule d'eau [68].

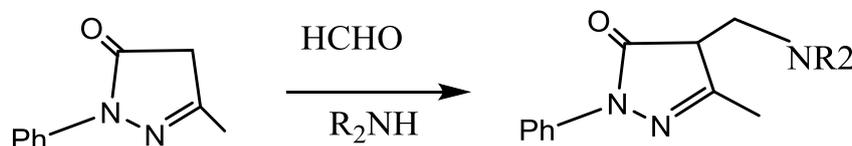


Figure I. 5. 5. Réaction de Mannich des pyrazolones

I. 5. 6. Réactions des pyrazolones avec les amines aromatiques

Une amination facile de avec une quantité équimolaire de N,N-diéthyl-3-méthylbenzène-1,4- diamine en présence d'agents oxydants tels que AgO₂ a donné le 4-arylimino-2-pyrazolin-5-one [70,71].

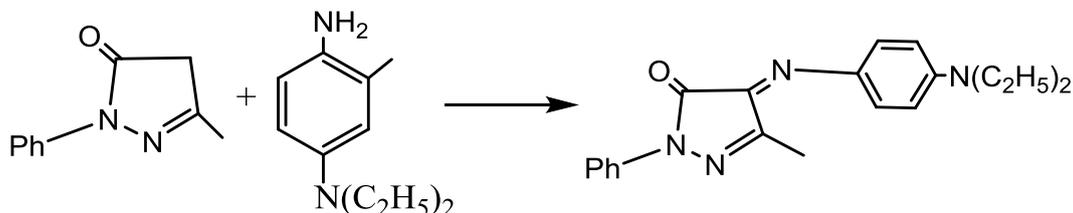


Figure I. 5. 6. Réactions des pyrazolones avec les amines aromatiques

I. 5. 7. Réactions des pyrazolones avec l'acide nitreux

Les pyrazolones réagissent avec l'acide nitreux pour donner des dérivés nitroso qui existent généralement sous forme d'oximes correspondants [72]. Ces composés existent sous forme d'isomères oximino. Ils sont fortement colorés, allant du jaune clair au rouge foncé. 4-oximino-2-pyrazolin-5-ones a été préparé selon Knorr par traitement de 2-pyrazolin-5-ones avec de l'acide nitreux.

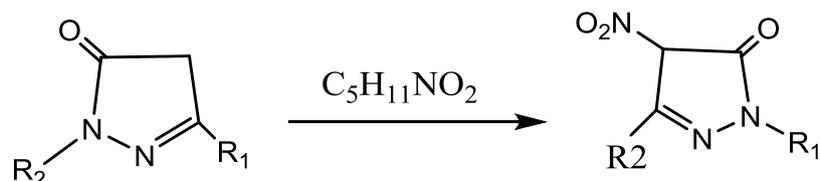


Figure I. 5.7. Réactions des pyrazolones avec l'acide nitreux

L'amylnitrite [73] et le trioxyde d'azote [74 ,75] ont également été utilisés comme agents nitrosants.

I. 5. 8. Réactions des pyrazolones le pentasulfure de phosphore :

La sulfuration de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin- 5-one pourrait être réalisée par le pentasulfure de diphosphore à environ 130-150 °C. Cette réaction est largement utilisée, pour la préparation de 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-thione qui pouvant exister sous forme thiol [76].

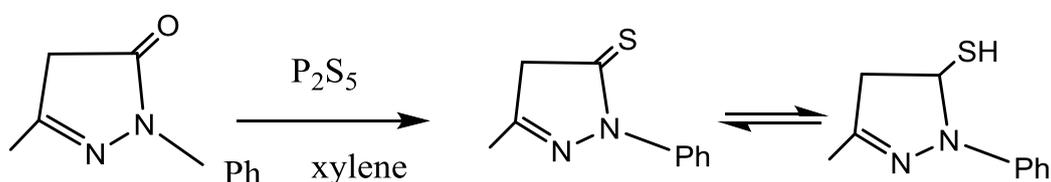


Figure I. 5. 8. Réaction de sulfuration des pyrazolones

I. 5. 9. Réactions de formylation des pyrazolones

Formylation de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one en 3-méthyl-1-phénylpyrazole-4-carbaldéhyde s'est produit dans des conditions de Reimer-Tieman (CH₃Cl / KOH) [77].

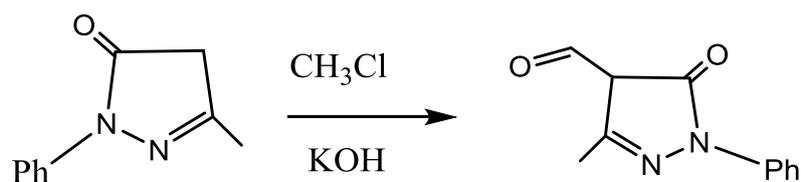


Figure I. 5. 9. 1. Réactions de formylation des pyrazolones

De plus, la formylation de Vilsmaier-Haak de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one avec oxychlorure de phosphore et la N,N-diméthylformamide, donne directement le 5-chloro-3-méthyl-1-phénylpyrazole-4-carbaldéhyde [78,79].

Au contraire, Wallace a rapporté que la même réaction a donné 1-phényl-4-carbaldéhyde pyrazol-5-one (73) [80].

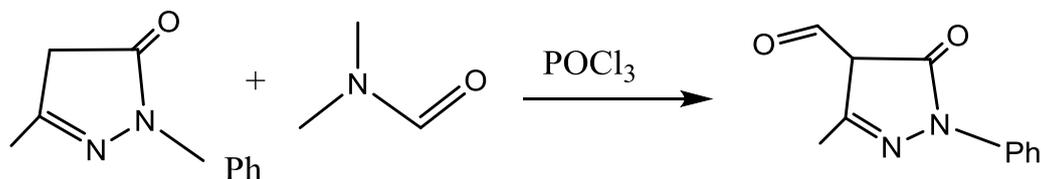


Figure I. 9.2. La formylation de Vilsmaier-Haak de pyrazolone

I. 5. 10. Réactions de nitration des pyrazolones

Les 4-nitropyrazolones **75** ont été obtenues en traitant les 2-pyrazolin-5-ones **74** avec de l'acide nitrique dilué ou par oxydation des 4-oximinopyrazolones **76** par l'ozone [72]

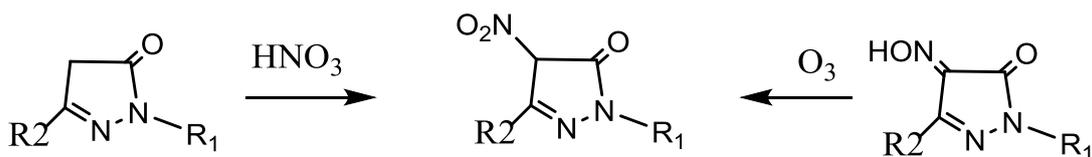


Figure I. 5. 10. 1. Réactions de nitration des pyrazolones avec HNO₃

Bergman et Al [81] ont constaté que la nitration de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one (**39**) à 15°C avec HNO₃ pendant une demi-heure a donné la 3-méthyl-4,4-dinitro-1-(4-nitrophényl) pyrazol-5-one sous forme de solide blanc avec un rendement de 90%.

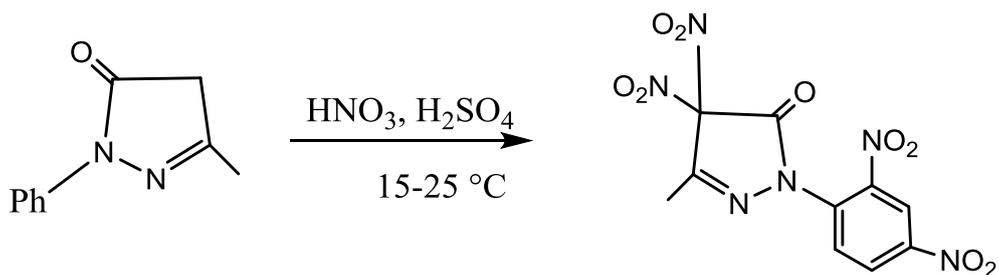


Figure I. 5.10. 2. Réactions de nitration des pyrazolones avec HNO₃/H₂SO₄

De plus, la nitration du 3-méthyl-1-phénylpyrazol-5-one à 10-25 °C avec un excès de mélange d'acides nitrique et sulfurique donne facilement le 3-méthyl-4,4-dinitro-1-(2,4-dinitrophényl) pyrazol-5-one un avec un rendement de 86 % [81].

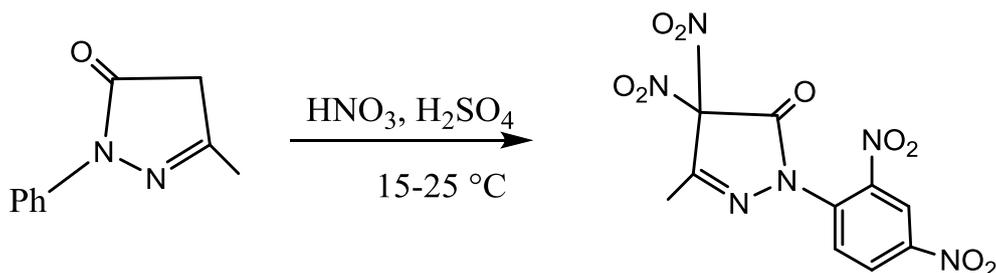


Figure I. 5.10.3 Réactions de nitration des pyrazolones avec un excès de mélange d'acides nitrique

D'autre part, la nitration de peut être effectuée en utilisant du nitrate d'amyle dans l'acétone ou l'éther pour plusieurs jours ont donné le 4-nitropyrazolone correspondant [73].

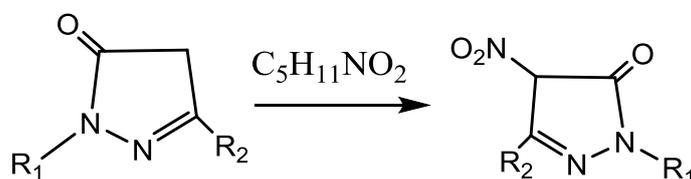


Figure I. 5.10. 4 Réactions de des pyrazolones avec nitrate d'amyle

I. 5. 11. Réactions de sulfonation des pyrazolones

Kaufmann a montré que la sulfonation de 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one avec l'acide sulfurique a entraîné la formation de l'acide 4-sulfonique correspondant [82].

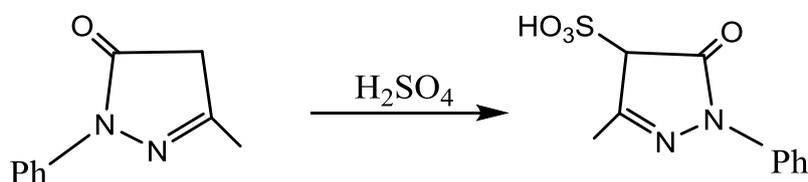


Figure I. 5. 11. Réactions de sulfonation des pyrazolones

I. 5. 12. Réactions d'halogénéation des pyrazolones

L'halogénéation de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one se produit presque exclusivement à la position 4 en passant du chlore dans une solution de pyrazolone dans le chloroforme pour donner le 4,4-dichloropyrazolone. Le même produit est formé par traitement de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one avec du pentachlorure de phosphore ou 1,3-dichloro-5,5-diméthyl-2,4-imidazolidinedione [83].

I. 5. 13. Réactions d'oxydation des pyrazolones

Agents oxydants doux tels que le phénylhydrazine [84,85], ou l'acide nitreux ou alors le chlorure de fer (III) en quantités limitées est utilisé pour l'oxydation du 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one pour donner la 4,4-bisarylméthylpyrazolone.

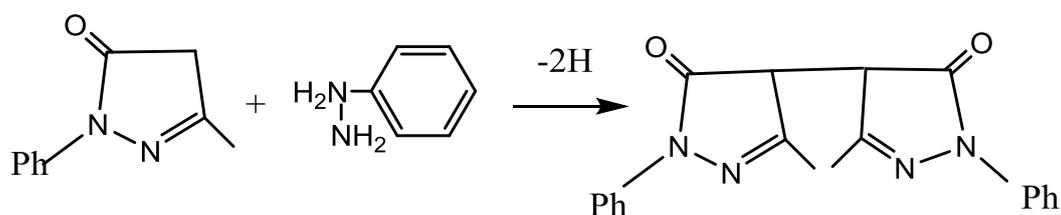


Figure I. 5. 13. Réactions d'oxydation des pyrazolones

Les agents oxydants très forts, tels que les permanganates de potassium détruisent complètement le cycle pyrazoline, formant de l'acide pyruvique, de l'eau, de l'azote et du dioxyde de carbone [86,87].

I. 5. 14. Réactions de réduction des pyrazolones:

Le cycle pyrazolinone est assez stable à la réduction catalytique. Le substituant aromatique peut être réduit en groupe cyclohexyle dans différentes conditions sans réduction de cycle hétérocyclique [89].

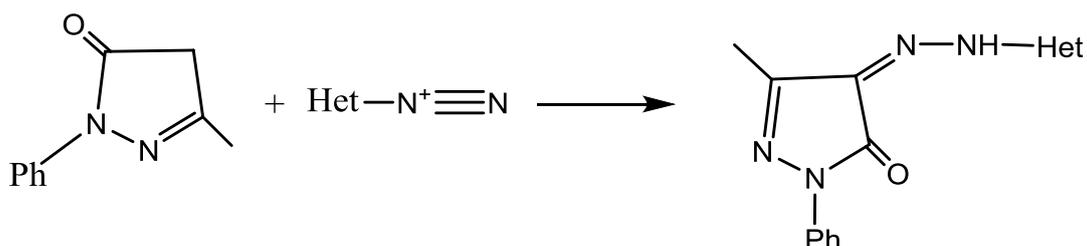


Figure I. 5. 14. 1. Réactions de réduction des pyrazolones

Le groupe carbonyle de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one est inchangé par le sodium dans l'alcool ainsi que par le zinc et l'acide chlorhydrique à 180 °C. Cependant, la 3-méthyl-1-phényl pyrazoline est le produit principal lorsqu'elle est distillée avec la poudre de zinc [90].

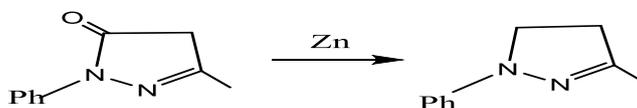


Figure I. 5. 14. 2. Réactions de réduction des pyrazolones par le zinc

Le sodium en présence d'alcool amylique [91] ou l'hydrure de lithium aluminium [92] réduit le groupe carbonyle de la 2-pyrazoline-5-one formant le dérivé 5-hydroxypyrazoline.

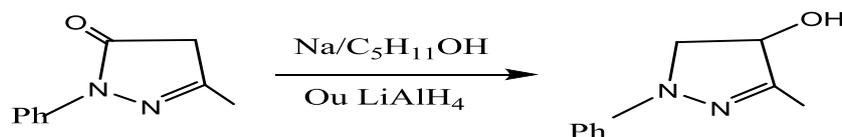


Figure I. 5. 14. 3. Réactions de réduction des pyrazolones avec LiAlH₄

I. 5. 15. Réactions de couplage des pyrazolones avec les sels de diazonium

Le groupe azoaryle peut être introduit dans la molécule de pyrazolone par leur réaction avec sels de diazonium[90,72]. Couplage de la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one avec sel de diazonium [90] se produit facilement et a été largement utilisé pour synthétiser des colorants commerciaux.

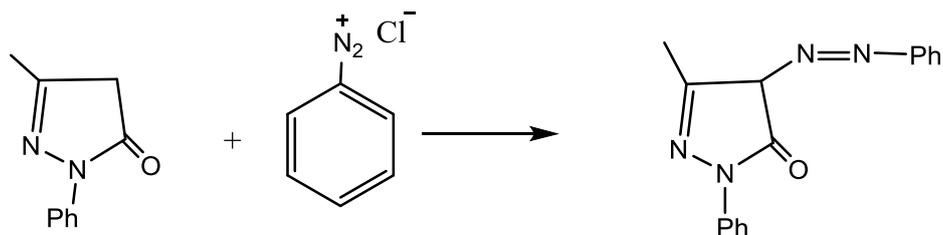


Figure I. 5. 15. Réactions de couplage des pyrazolones avec les sels de diazonium

Summers a rapporté la synthèse de certains nouveaux azo 4-hétaryl-3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolinone via la réaction de la 3-aminopyridine diazotée ou de l'acide 3-aminoquinoléine diazotée, avec 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazoline-5-one [93].

I. 6. Applications des pyrazolones

Les pyrazolones ont toutes trouvés une large utilisation dans de nombreux domaines. Leur plus grande utilité réside dans la pharmacie, agrochimie, colorants (textile et photographie), et dans une moindre mesure dans les plastiques.

I. 6. 1. Applications pharmaceutiques

Les pyrazolones présentent un large éventail propriétés biologiques : analgésiques, antibactériennes, antifongique, antagoniste, anti-inflammatoire, antimicrobien, antidiabétique, antihyperglycémiant et anxiolytique. Voici quelques-uns les plus importants : phénazone (antipyrine), aminopyrine (Pyramidon), propyphénazone (Isopropylphénazone), méthanesulfonate de noraminopyrine sodique (Novalgin), phénylbutazone (Butazolidine), nifénazone (Nicopyron), oxyphenbutazone (Tanderil), morazone (Tarugan), isopyrine et pipérylone. La substance mère de presque tous ces produits est le 1-phényl-3-méthyl-5-pyrazolone méthylée en position 2 (antipyrine) [94].

I. 6. 2. Pyrazolones colorants et pigments

Les colorants de pyrazolone d'importance industrielle sont presque exclusivement des colorants azoïques. La molécule de pyrazolone se couple avec des composés de diazonium en position 4 pour donner des colorants azoïques et pigments qui présentent une bonne force de couleur, une résistance à la lumière et d'autres propriétés favorables

[95,96] Comme par exemple le PO13 (Fig.I.6 2), connu sous le nom orange pyrazolone aux États-Unis, est largement utilisé dans des peintures. Il a été introduit pour la première fois en 1910 et est utilisé dans les encres d'imprimerie en raison de son excellent solvant. Le PO13 est également utilisé dans les applications d'encre d'imprimerie et pour la coloration des plastiques [97].

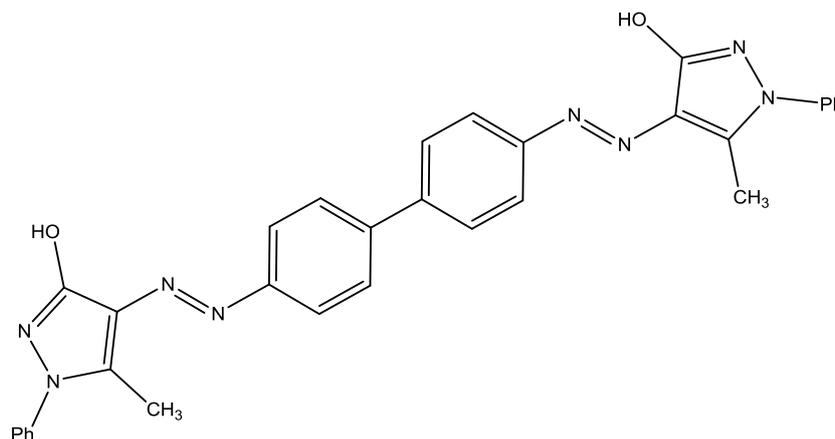


Figure I. 6. 2 : Structure de PO13, pyrazolone orange

Outre leur utilisation dans la teinture du cuir et de la laine (colorants azoïques), les pyrazolones ont également trouvé une utilisation comme précurseurs de teintures pour coton, pigments et teintures pour fibres synthétiques et matières plastiques. Les pyrazolones sont ainsi trouvés parmi presque tous les types de colorant. Pour les teintures de laine, solubilisant les groupes sulfo et carboxyle sont utilisés qui peuvent être des substituants à la fois dans la pyrazolone et dans le composant de couplage. La capacité des dérivés de pyrazolone à former des complexes avec le chrome est exploitée dans la production de colorants au chrome. En introduisant des composants dits réactifs dans les pyrazolones ou dans le composant de couplage, on obtient des colorants réactifs pour fibres cellulosiques (Reactive Dyes).

I. 6. 3. Application en chimie analytique

L'utilisation des pyrazolones comme réactifs analytiques a été publiée dans de nombreux articles et brevets. Par exemple, les dérivés sont utiles pour l'extraction et la séparation de divers ions métalliques, pour le dosage du phénol, des cyanures et de l'ammoniac, et comme sensibilisateurs photographiques [98].

I. 7. Conclusion :

Ce chapitre présente les méthodes de synthèse, la tautomérie et les propriétés chimiques des pyrazolones ainsi que leurs réactions chimiques. La plus grande utilité du pyrazol-5-one ceux dans les applications biologiques et industrielles ont montré des développements intéressants dans les toutes dernières années. Il est certain que, comme jusqu'à présent, l'utilisation de ces composés montrera un flux d'applications dans les années à venir et continuera d'être un outil de synthèse indispensable en chimie organique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Wiley, RH.; Wiley P. The Chemistry of Heterocyclic Compounds; Pyrazolones, Pyrazolidones, and Derivatives, J. Wiley & Sons, New York 1964.
- [2] Knorr, L. Ber. Dtsch. Chem. Ges., 16, 2597 (1883).
- [3] (a) Ziegler, JH.; Locher M. Ber. Dtsch. Chem. Ges., 20, 834 (1887). (b) Herbst, W.; Hunger, K. Industrial Organic Pigments: Production, Properties and Applications, 3rd ed. Weinheim:VCH, 2004.
- [4] Katritzky, AR.; Maine, FW. Tetrahedron, 20, 315. (1964).
- [5] Knorr, L. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 28, 706 (1895).
- [6] Freyer, W.; Koppel, H.; Radeglia, R.; Malewski, G. J. Prakt. Chem., 325, 238 (1983).
- [7] (a) Beyer, H; Stehwien, D. Arch. Pharm., 286, 13 (1953). (b) Krohs, W. Chem. Ber., 88, 866 (1955).
- [8] (a) Katritzky, AR.; Maine, FW.; Golding, S. Tetrahedron, 21, 1693 (1965). (b) Katritzky, AR.; Maine, FW. Tetrahedron, 20, 299 (1964). (c) Katritzky, AR. Chem. Heterocycl. Compd., 291 (1992). (d) Karelson, MM.; Katritzky, AR.; Szafran, M.; Zerner, MC. J. Chem. Soc. Perkin Trans., 2, 195 (1990). (e) Katritzky, AR.; Ghiviriga, L. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, 1651 (1994). (f) Katritzky, AR. Chimia, 24, 13 (1970). (g) Katritzky, AR. Handbook of Heterocyclic Chemistry; Pergamon Press: Oxford, 1984; Vol. 5, Chapt. 1.
- [9] Elguero, J.; Marson, C.; Katritzky, AR.; Linda, P. Advances in Heterocyclic Chemistry; Academic Press, New York: 1976. (b) Elguero, J.; Guirand, G.; Jacquier, R.; Tarrago, G. Bull. Soc. Chim. Fr., 755 (1966). (c) Elguero, J.; Jacquier, R.; Tarrago, G. Bull. Soc. Chim. Fr., 3772 (1967). (d) Elguero, J.; Jacquier, R.; Tarrago, G. Bull. Soc. Chim. Fr., 3780 (1967). (e) Elguero, J.; Guirand, G.; Jacquier, R.; Tarrago, G. Bull. Soc. Chim. Fr., 5019 (1968). (f) Elguero, J.; Katritzky, AR.; Denisko, OV. Adv. Heterocycl. Chem., 76, 1, (2000).
- (g) Elguero, J. in: Katritzky, AR.; Rees, CW; Scriven, EF. (Eds.), Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: Pyrazoles, vol. 3, Pergamon, Oxford, 1996.
- [10] Dorn, H. J. Prakt. Chem., 315, 382, (1973).
- [11] Evans, NA.; Whelan, DJ.; Johns, RB. Tetrahedron, 21, 3351(1965).
- [12] (a) Tschmutova, G.; Ahlbrecht, H. Z. Naturforsch. B, 52, 535 (1997). (b) Ono, S.; Okazaki, K.; Sakurai, M.; Inoue, Y. J. Phys. Chem. A, 101, 3769 (1997).

- [13] Hawkes, GE.; Randall, EW; Elguero, J. Marzin, C. J. Chem. Soc. Perkin Trans., 2, 1024 (1977).
- [14] Elguero, J.; Martinez, A.; Singh, SP.; Grover, M.; Tarar, LS. J.Heterocycl. Chem., 27, 865(1990).
- [15] (a) Bechtel, F.; Gaultier, J.; Hauw, CH. Cryst. Struct. Commun., 3, 469 (1973). (b) FocesFoces, C.; Fontenas, C.; Elguero, J.; Sobrados, I. An. Quim.Int. Ed., 93, 219 (1997). (c) Sieler, J.; Kempe, R.; Henning, L.; Becher, J. Z. Kristallogr., 198, 313 (1992).
- [16] Kleinpeter, E.; Koch, A. J. Phys. Org. Chem., 14, 566 (2001).
- [17] Biquard, D.; Grammaticakis, MP. Bult. Soc. Chim. Fr., 8, 246 (1941).
- [18] (a) Gagnon, PE.; Boivin, JL.; BOIVINP, A. Can. J. Research, B, 28, 720. (1950). (b) Gagnon, PE.; Boivin, JL.; CHISHOLMA,. Can. J. Chem., 30, 904. (1952). (c) Gagnon, PE.; Boivin, JL.; JONES,R . N. Can. J. Research, B, 27, 190 (1949). (d) Gagnon, PE.; Boivin, JL.; Paquin, RJ. Can. J. Chem., 31, 1025 (1953). (e).Gagnon, PE.; Nolin, B.; and Jones,RN. Can. J. Chem., 29: 843. 1951. (f) Gagnon, PE.; Boivin, JL.; MacDonald, R; Yaffe, R. Can. J. Chem., 32, 823 (1954).
- [19] Carpino, A. J. Am. Chem. Soc., 80, 5796 (1958).
- [20] Huttel, R.; Wagner, E.; Sickenberger, B. Ann. Chem. Liebigs, 607, 109 (1957).
- [21] Janssen, R.; Ruyschaert, H. Bull. Soc. Chim. Belg., 67, 270 (1958).
- [22] Refn, S. Spectrochim. Acta, 17, 40 (1961).
- [23] (a) Veibel, S; Eggersen, K.; Linholt, SC. Acta Chem. Scand., 8, 768 (1954). (b) Veibel, S; Kjaer, J; Plejl, E, Acta Chem. Scand., 5, 1283 (1951). (c) Veibel, S; Eggersen, K.; Linholt, SC. Acta Chem. Scand., 6, 1066 (1952).
- [24] Pelz, W.; Puschel, W.; Schellenberger, H.;Loffler, K. Angew. Chem., 72, 967(1960).
- [25] Silverstein, RM.; Shoolery, JN. J. Org. Chem., 25, 1355 (1960).
- [26] (a) Westoo, G. Acta Chem. Scand., 6, 1499 (1952). (b) Stepanov, BI. " An Introduction to the Chemistry and Technology of Organic Dyes ", Izd. Khimiya, Moscow, 1984, p.589.
- [27] (a) Jones, R.; Ryan, AJ.; Sternhell, S.; Wright, SE. Tetrahedron, 19, 1497 (1963). (b) Lestina, GJ.; Regan, TH. J. Org. Chem., 34, 1685 (1969). (c) Snavely, FA.; Yoder, CH., J. Org. Chem., 33, 513 (1968). (d) Kaul, BL.; Nair, PM.; Rao, AV.; Venkataraman, K., Tetrahedron Lett., 3897(1966). (e).Lycka, A.; Snobl, D.; Machacek, V.; Vecera, M. Org. Magn. Reson., 16, 17 (1981). (f) Lycka, A.; Snobl, D.; Machacek, V.; Vecera, M. Org. Magn. Reson., 15, 390 (1981).

[28] (a) Toda, S. *Nippon Kagaku Zasshi*, 80, 402 (1959); *Chem. Abstr.*, 55, 4150 (1961). (b) Yasuda, H., *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 40, 1239 (1967); *Chem. Abstr.*, 67, 48707 (1967). (c) Yasuda, H., *Appl. Spectrosc.*, 23, 22 (1969). (d) Ioffe, IS., Kryukova, LM., and Kim, NY., *Zh. Org. Khim.*, 7, 219 (1971); *Chem. Abstr.*, 76, 4.5638 (1972). (e) Trotter, PJ. *Appl. Spectrosc.*, 31, 30 (1977). (f) Parent, RA., *J. Soc. Dyers Colour.*, 92, 371 (1976); *Chem. Abstr.*, 86, 30980 (1977). (g) Parent, RA., *J. Soc. Dyers Colour.*, 92, 368 (1976). (h) Ragab, M.; Habib, NS. *Sci. Pharm.*, 46, 254 (1978); *Chem. Abstr.*, 90, 203229n. (j) Yasuda, H.; Midorikawa, H., *J. Org. Chem.*, 31, 1722 (1966).

[29] (g) Dahn, H.; Roteler, G. *Helv. Chim. Acta.*, 43, 1555 (1960). (h) Snavely, FA.; Trahanovsky, WS; Suydam, FH. *J. Org. Chem.*, 27, 994 (1962). (c) Snavely, FA.; Suydam, FH. *J. Org. Chem.*, 24, 2039 (1959).

[30] (a) Mustroph, H. *Z. Chem.*, 27, 281 (1987). (b) Elguero, J. Marzin, C.; Katritzky, AR.; Linda, P. *The Tautomerism of Heterocycles*, Academic Press, New York; 1976, p. 336-339. (c) Lycka, A.; Mustroph, H. *J. Prakt. Chem.*, 331, 11 (1989). (d) Panea, I.; Ghirisan, A.; Cristea, I.; Gropeanu, R.; Silberg, IA. *Het. Commun.*, 7, 363 (2001). (e) Panea, I.; Pelea, M.; Silberg, IA. *Dyes Pigm.*, 68, 165 (2006). (f) Panea, I.; Pelea, M.; Silberg, IA. *Dyes Pigm.*, 74, 113 (2007).

[31] (a) Golinski, B.; Reck, G.; Kutschabsky, L. *Z. Kristallogr.*, 158, 271 (1982). (b) Whitaker, A. *Acta Crystallogr., Sect C: Cryst. Struct. Commun.*, 44, 1767 (1988). (c) Arriau, J.; Campillo, J.; Deschamps, J.; Parmentier, P. *Tetrahedron*, 30, 1353 (1974). (c) Arriau, J.; Casipillo, J.; Elguero, J.; Pereillo, P. *Tetrahedron*, 30, 1345 (1974)

[32] (a) Elguero, J.; Katritzky, AR. *Adv. Heterocycl. Chem.*, 76, 1 (2000). (b) Belmar, J.; Alderete, J.; Parra, M.; Zuniga, C. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 44, 367 (1999).

[33] Jensen, BS. *Acta Chem. Scand.*, 13, 1668 (1968).

[34] Westoo, G. *Acta Chem. Scand.*, 13, 679 (1959).

[35] Westoo, G. *Acta Chem. Scand.*, 13, 683 (1959).

[36] (a) Angermann, A.; Franke, H.; Geisler, J.; Johann, G., Rees, R. *Eur. Pat. Appl. EP 410552*, 1991; *Chem. Abstr.* 1991, 115, 49681e. (b) Sucrow, W. *Org. Prep. Proced. Int.* 1982, 14, 91. (c) Maurelia, R.; Leon, G.; Oliva, A. *Synth. Commun.* 20, 477 (1990). (d) Lee, LF.; Scleppnik, FM.; Schneider, RW.; Campbell, DH. *J. Heterocycl. Chem.*, 27, 243 (1990). (e) Hamper, BC.; Kurtzweil, ML.; Beck, JP. *J. Org. Chem.*, 57, 5680 (1992).

- [37] (a) Kumar A.; Ila, H.; Junjappa, H. *Synthesis*, 324 (1976). (b) Schaefer, H.; Gewald, K. J. *Prakt. Chem.*, 325, 41 (1983). (c) Nawwar, AM.; EI-Diwani, LH.; Arbid, SM. *Egypt. J. Pharm. Sci.*, 30, 339 (1989). (d) Oliva, A.; Lebn, G.; Maurelia, R. *Org. Prep. Proced. Int.*, 22, 511 (1990).
- [38] (a) Reiner, K.; Richter, R.; Hauptmann, S.; Becher, J. Hennig, L. *Tetrahedron*, 51, 13291 (1995). (b) Risitano, F.; Grassi, G.; Caruso, F.; Foti, F. *Tetrahedron*, 52, 1443 (1996).
- [39] (a) Sucrow, W.; Mentzel, C.; Slopianka, M. *Chem. Ber.*, 107, 1318 (1974). (b) Oliva, A.; Castro, I.; Castillo, C.; Leon, G. *Synthesis*, 481 (1991).
- [40] Huang, YY.; Lin, HC.; Cheng, KM.; Su, WN.; Lin, TP.; Wong, FF.; Sung, KC.; Huang, JJ.; Lin, SK. *Tetrahedron*, 65, 9592 (2009).
- [41] Moreau, F.; Desroy, N.; Genevard, JM.; Vongsouthi, V.; Gerusz, V.; Le Fralliec, G.; Oliveira, C.; Floquet, S.; Denis, A.; Escaich, S.; Wolf, K.; Busemann, M.; Aschenbrenner, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 4022 (2009).
- [42] Hoechst, DE. 3 416 205, 1984 (R. Berthold).
- [43] Farbenind, IG. DE 740 249, 1938 (H.Vollmann, W. Ostrowski, F. Schloffer) .*Friedlander VI/2*, 2424.
- [44] Hoechst, DE. 3 416 205, 1984 (R. Berthold).
- [45] Farbenind, IG. DE 740 249, 1938 (H.Vollmann, W. Ostrowski, F. Schloffer) .*Friedlander VI/2*, 2424.
- [46] Kurz, P.; Gold, H.; Disselknöter, H. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 624, 20 (1959).
- [47] Michaelis, A.; Pasternak, R. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 32, 2398 (1899). 34, 723 (1901).
- [48] Ruhkopf, H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 73, 820 (1940).
- [49] Hu, Y.; Wei, P.; Zhou, H.; Ouyang, PK.; Chen, ZC. *Chin. Chem. Lett.*, 17, 299 (2006).
- [50] Sheibani, H.; Babaie, M. *Synth. Commun.*, 40, 257, (2010).
- [51] Saini, A.; Sandhu, JS.; Bhatti, RS. *J Indian Chem Soc.*, 84, 1239 (2007).
- [52] Sun, J.; Yan, CG.; Han, Y. *Synth. Commun.*, 31, 151 (2001).
- [53] Li, D.; Song, L.; Song, S.; Zhu, S. *J. Fluorine Chem.*, 128, 952 (2007).
- [54] Dandia, A.; Singh, R.; Singh, D.; Laxkar, A.; Sivpuri, A. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 185, 2472 (2010).
- [55] Li, XL.; Wang, YM.; Tian, B.; Matsuura, T.; Meng, JB. *J. Heterocycl. Chem.*, 35,129 (1998).
- [56] Knorr L., *Ann.*, 238, 137 (1887).

- [57] Ginzburg, O.F.; Zhur. Obshchei Khim., 23, 1890 (1953); Chem. Abstr., 49, 1049 (1955).
- [58] Ginzburg, O.F.; Terushikin, V.R. Zhur. Obshchi Khim., 23, 1049 (1953); Chem. Abstr., 48, 8221 (1954).
- [59] Knorr, L. Ber., 17, 546 (1884).
- [60] Okada, T.; Murokamino, T; Naito, K.; Nizushima, Y. Japan, Kororia, 7361, 475, 28 Aug. 1973, Appl. 7196, 745, 02 Des. 1971; 3pp; Chem. Abstr., 80, 2838 (1974).
- [61] Bodendorf, K.; Raaf, H. Ann., 592, 26 (1955); Chem. Abstr., 50, n 309f, 10092g (1956).
- [62] Pegurier, C.; Collart, P.; Danhaive, P.; Defays, S.; Gillard, M.; Gilson, F.; Kogej, T.; Pasau, P.; Van Houtvin, N.; Van Thuynes, M.; van Keulen, B. Bioorg. Med. Chem. Lett., 17, 4228 (2007).
- [63] Kendall, J.D.; Fry, D.J. Brit Pat. 544, 647 (1942); Chem. Abstr., 37, 1046 (1943).
- [64] Johnson, A.W. J. Chem. Soc. 1626, 31 (1947); Chem. Abstr., 42, 2944 (1948).
- [65] Jensen, B.S. Acta Chem. Scand., 13, 1668 (1959).
- [66] Maruoka, H.; Yamagata, K.; Okabe, F.; Tomioka, Y. J. Heterocycl. Chem., 43, 859 (2006).
- [67] Bai, Y.; Lu, J.; Gan, H.; Wang, Z. Synth. Commun., 32, 2549 (2002).
- [68] Chandramohan, M.R.; Sardesai, M.S.; Shah, S.R.; Seshadri, S. Indian J. Chem. 7, 1006 (1969); Chem. Abstr., 72, 12667 (1970).
- [69] Elnagdi, M.H.; Ohta, M.B. Bull Chem. Soc. Tap., 46, 3818 (1973); Chem. Abstr., 80, 82790 (1974).
- [70] Vittum, P.W.; Sawdey, G.W.; Herdle, R.A.; Scholl, M.K. J. Am. Chem. Soc., 72, 1533 (1950).
- [71] Gerboux, R. Bull. Soc. Chim. Belg., 58, 498 (1949).
- [72] Curtius, T. J. Prakt. Chem., 85, 37 (1912).
- [73] Ajello, T. Gazz. Chim. Ital., 70, 401 (1940); Chem. Abstr., 35 3262 (1941).
- [74] De. Quart. J. Indian Chem. Soc., 3, 30 (1926).
- [75] Dutt, S.; Dharam, I.N. Proc. Indian Acad. Sci., 10A, 55 (1939); Chem. Abstr., 34421940
- [76] Stoermer, R.; Johannsen, D. Ber., 40, 3701 (1907).
- [77] Emerson, E. J. Org. Chem., 08, 417 (1943).
- [78] Datterl, B.; Troestner, N.; Kucharski, D.; Holzer, W. Molecules, 15, 6106 (2010).
- [79] Yu, Z.H.; Shi, D.Q. Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem., 185, 1746 (2010).
- [80] Wallace, D.J.; Straley, J.M. J. Org. Chem., 26, 3825 (1961).
- [81] Bergman, J.; Bergman, S.; Brimert, T. Tetrahedron, 55, 10447 (1999).

- [82] Kaufmann, S. Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.), 278, 437 (1940).
- [83] Spitulnik, MJ. Synthesis, 299 (1985).
- [84] Michaelis, A.; Rademacher, O.; Schiedekambf, E. Ann., 354, 55 (1907); Chem. Abstr., 1, 2601 (1907).
- [85] Elderfield, RC. Heterocyclic Compounds, John Wiley & Sons: New York, (1957), p, 135.
- [86] Passerini, M.; Ragni, G. Gazz. Chim. Ital., 66,684 (1936); Chem. Abstr., 32, 3484 (1937).
- [87] Von Rothenburg, R. Ber., 26, 2053 (1893)
- [88] Sheibani, H.; Babaie, M. Synth. Commun., 40, 257, (2010).
- [89] Schuster and Krzikalla, U.S. Pat. , 2, 132, 193 (1939); Chem. Abstr., 33, 180 (1939).
- [90] Knorr L., Ann., 238, 137 (1887).
- [91] Auwers, KV.; Dersch, F., Ann., 462, 104 (1928); Chem. Abstr., 22, 3163 (1928).
- [92] Twomey, D. Proc. Roy. Irish Acad., 576, 39 (1954); Chem. Abstr., 50, 340 (1956)
- [93] Summers, LA. Aust. J. Chem., 26, 2723 (1973)
- [94] (a) Lednicer, D. The Organic Chemistry of Drug Synthesis, John Wiley & Sons: New York, 1995. (b) Blaney, JM.; Hansch, C.; Sammes, PG.; Taylor, JB.; Ramsden, CA., Comprehensive Medicinal Chemistry. Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1990. (c) Goodman Gilman, A.; Rail, TW.; Nies, AS.; Taylor, P. Eds.; Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics; 8th ed.: Pergam Press: Oxford, 1990. (d) Lednicer, D.; Mitscher, LA.; Georg, G. 1. The Organic Chemistry of Drug Synthesis, John Wiley & Sons: New York, 1990. (e) Fries, R. W.; Bohlken, DP.; Plapp, BV. J. Med. Chem., 22, 356 (1979). (f) Herter, R.; Schickaneder, H.; Moersdorf, P.; Postius, S.; Szelenyi, I.; Ahrens, KUS. Pat. US 4466921, 1987; Chem. Abstr. 1987, 107, 236703k. (g) Dorn, H.; Ozegowski, R. Ger. (East) Pat. DD 242041, 1987; Chem. Abstr. 1987, 107, 59025t. (h) Dorn, H.; Ozegowski, R. Ger. (East) Pat. DD 242044, 1987; Chem. Abstr. 1987, 107, 59026u. (i) Huang, FCU. Pat. US 4668694, 1987; Chem. Abstr. 1987, 107, 59027v.
- [95] Lomax, SQ; learner, T. JAIC, 45, 107 (2006).
- [96] (a) Metwally, MA.; Khalifa, ME.; Amer, FA. Dyes Pigm., 76, 379 (2007). (b) Ho, YW. Dyes Pigm., 64, 223 (2005). (c) Metwally, MA.; Abdel-Galil, E.; Metwally, A.; Amer, FA. Dyes Pigm., 92, 902 (2012). (d) Metwally, MA; Bondock, SA; El-Desouky, SI; Abdou, MM. J. Korean Chem. Soc., 56, (2012).

[97] Karci, F.; Ertan, N. *Dyes Pigm.*, 55, 99 (2002).

[98] (a) Barton, R.J.; Johnson, K.E.; Robertson, B.E.; Yerhoff, F.W.; Hu, S. *Can. J. Chem.*, 65, 2082 (1987). (b) Mahapatra, B.B.; Panda, D.; Das, D.K.; Patel, B.K.; Chaudhury, S.C. *J. Indian Chem. Soc.*, 661 (1988). (c) Qureshi, A.M.; Patel, A.N. *Z. Naturforsch.*, 33, 450(1978).

CHAPITRE II

Etude bibliographique sur l'activité biologique

II. 1. Introduction

Les dérivés du pyrazole et de la pyrazolone sont des synthons et réactifs importants en synthèse organique, ils ont trouvé des applications avec de nombreuses activités pharmacologiques, comme analgésique, anti-inflammatoire, antipyrétique, arythmique, tranquillisant, relaxant musculaire, psychoanaleptique, anticonvulsivant, inhibiteur de la monoamine oxydase, anxiolytique, etc. [1]. De plus, les pyrazoles et les pyrazolones ont été avérés utiles dans les produits agrochimiques, les colorants et avec d'autres applications diversifiées [2]. Tous les composés synthétisés ont été vérifiés pour leurs propriétés biologiques (antioxydants, antibactériennes et antifongiques).

II. 2. Activité biologique

L'activité biologique est "la capacité d'une entité moléculaire spécifique à obtenir un effet biologique défini" sur une cible donnée [3]. Elle est mesurée en termes de puissance ou de concentration de l'entité moléculaire nécessaire pour produire l'effet [4]. Une activité biologique est déterminée au moyen d'un test biologique. Un essai biologique est une expérience qui détermine l'activité biologique d'une substance en fonction de son effet sur une cible spécifique, par rapport à celui d'une préparation standard [5]. C'est également le processus par lequel la puissance d'un agent est mesurée en termes de réactions d'une cible médicamenteuse spécifique [4].

II. 2. 1. Activité anti-oxydante

II. 2.1. 1. Définition de stress oxydant

Le stress oxydant se définit par le déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants endogènes ayant pour conséquence des dommages intracellulaires. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies allant de la simple infection aux maladies neurodégénératives comme l'Alzheimer. L'évolution de la médecine avec la compréhension de l'apparition des pathologies a permis de mieux cibler des thérapeutiques et c'est ainsi que les antioxydants ont trouvé leur intérêt dans le traitement ou la prévention de plusieurs maladies. Une source majeure d'antioxydants est notamment la Nature. Elle est d'autant plus importante à l'homme qu'elle lui en fournit une quantité significative via l'alimentation. Les domaines d'application des antioxydants sont multiples. Ils sont largement utilisés pour leurs capacités à empêcher l'oxydation dans l'industrie agroalimentaire mais également en cosmétologie où ils jouent un rôle marketing du fait de leur origine naturelle.

Ce chapitre abordera d'une manière chronologique, la description et les définitions du stress oxydant endogène et exogène, pour traiter par la suite, les méthodes communes

d'analyse du pouvoir antioxydant. Avant d'aborder vers la fin, la partie consacrée aux diverses applications des antioxydants et plus particulièrement en médecine humaine [6].

II. 2. 1. 2. Origine du stress oxydatif

Les Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années **50**, **Gerschman** puis **Hartman** évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En **1969**, les Américains **McCord et Fridovich** isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant superoxyde dismutase «SOD», démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit des espèces réactives d'oxygène «ERO» dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [7].

II. 2. 1. 3. Mécanismes pro-oxydants

La production de radicaux libres est un phénomène permanent au sein de la matière vivante. La chaîne respiratoire mitochondriale, les leucocytes et la NAD(P) H oxydase, sont les principales sources biologiques de radicaux libres [8].

Un radical libre est une espèce chimique (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire ou plusieurs sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène [9]. Parmi les radicaux libres, l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle sont les plus connus. L'avènement de la biologie moléculaire a permis de montrer que les espèces oxygénées activées (EOA) ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables:

- ✓ De réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux [10].
- ✓ D'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux-mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire [11].
- ✓ De moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes [12].
- ✓ De détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires [13].

Par contre, si les espèces oxygénées activées sont produites en quantité trop importante, elles auront des effets néfastes en induisant un phénomène d'apoptose dans des cellules saines, ou en activant divers gènes codant pour l'expression de cytokines pro-inflammatoires ou de protéines d'adhésion.

II. 2. 1. 4. Définition d'un radical libre

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres [14]. Selon la définition proposée par **Halliwell et Gutteridge (1997)**, les radicaux libres sont des espèces chimiques contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires. Ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente: Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres [15].

II. 2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

II. 2. 2. 1. Rôles biologique des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire [16].

II. 2. 2. 2. Les conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information [17]. La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi

des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques [17]. Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus (tératogénèse), dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions [7].

II. 2. 3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives [18]. Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, et le diabète...), et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux [19].

II. 2. 3. 1. Classification des antioxydants

II. 2. 3. 1a. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (groupe 1) ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (groupe 2). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire [20].

✓ Groupe I : Les antioxydants primaires

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon

prédominante avec les radicaux pyroxylés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement ($\text{ROO}\cdot$). Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation [21].

✓ **Groupe II : Les antioxydants secondaires**

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de molécules d'oxygène, d'inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxydes. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux [22].

II. 2. 3. 1b. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

✓ **Les antioxydants naturels**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les oestrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E [17]. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [23]

✓ **Les antioxydants enzymatiques**

Les antioxydants enzymatiques sont principalement représentés par trois enzymes, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l' $\text{O}_2\cdot$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire [24].

✓ **Les antioxydants non enzymatiques**

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols. Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que l butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée [25]. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques [26]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en

augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques. Il est aussi rapporté que le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [27, 28].

II. 2. 3. 2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur [29].

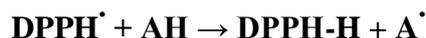
II. 2. 3. 3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des différents composés chimiques a été évaluée in vitro, par le test du piégeage du radical DPPH* (2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl).

II. 2. 3. 4. Test du piégeage du radical libre DPPH

✓ Principe

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des solutions éthanoïques de l'édaravone et ses dérivés [30-32]. Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron libre s'apparie selon la réaction suivante :



Où AH est un composé capable de donner un H⁺ au radical DPPH (**Figure II.1**). Cette décoloration est représentative de la capacité des solutions à piéger ces radicaux libres. Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante se transforme en DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu en milieu éthanoïque à température ambiante,

cela permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux [33].

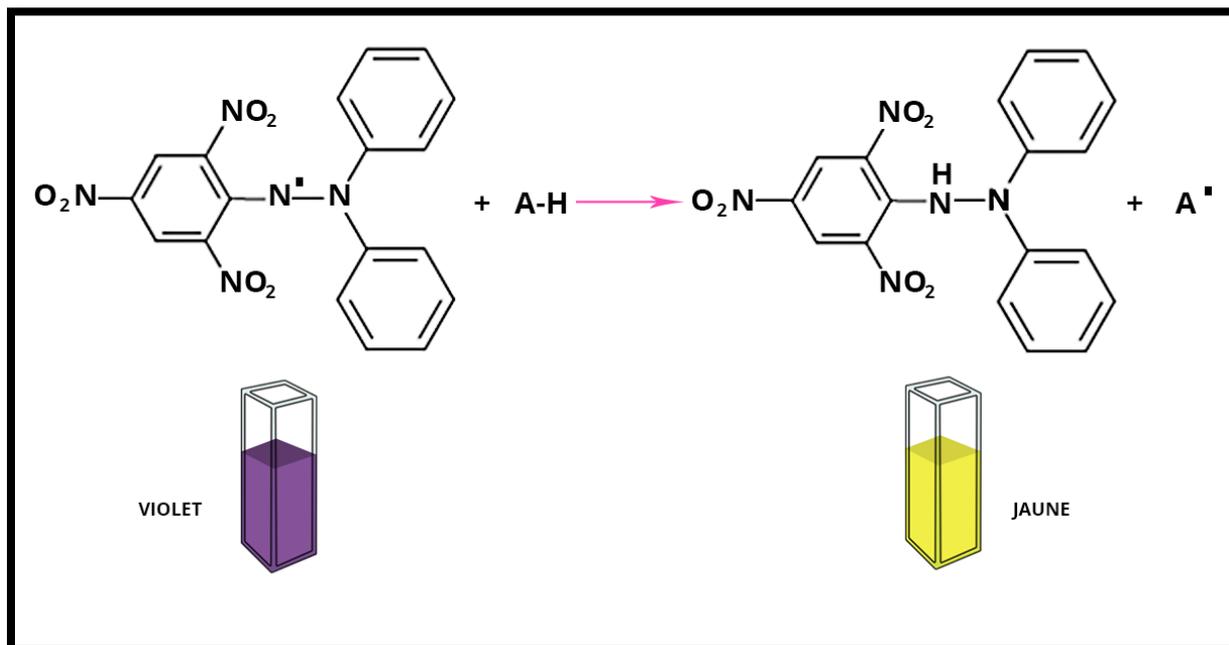


Figure. II .1 Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

II. 2. 3. 5. Expression des résultats

L'activité antioxydant, qui exprime la capacité de solutions éthanoliques de l'édaravone ou de ses dérivés à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante [34].

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs test}) \times 100}{\text{Abs control}}$$

Avec :

Abs control : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 515 nm ;

Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 515 nm

II. 2. 3. 6. Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % " IC 50"

IC₅₀ (Concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (Concentration efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de Différentes concentrations des échantillons testées [35].

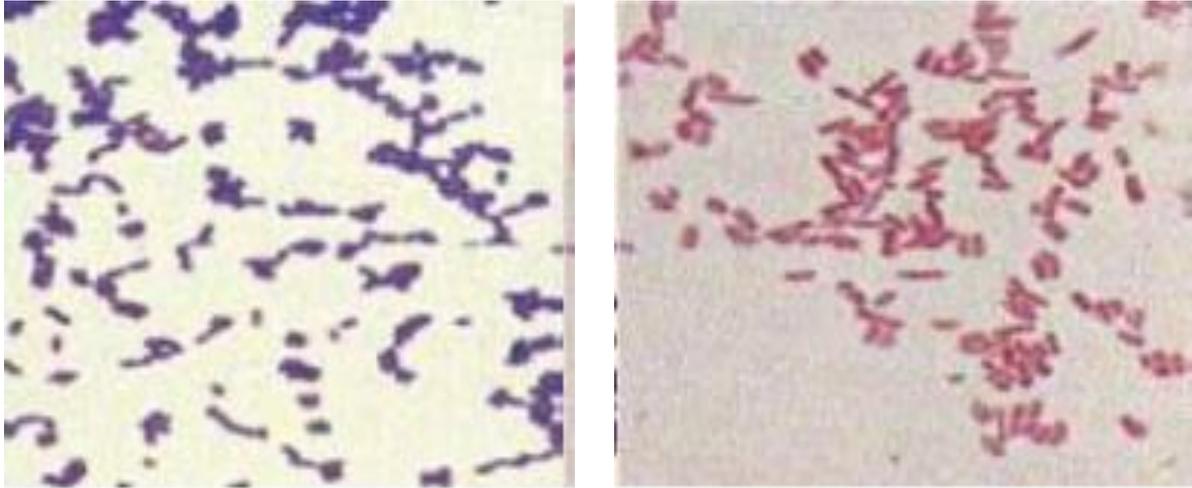


Figure II.2. Appareil de spectrophotométrie

II. 2. 4. Activités antibactérienne

II. 2. 4. 1. Les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2 μm et, jusqu'au début du XXI^e siècle, les spécialistes considéraient que les plus petites mesuraient 0,2 μm , mais il existe des «ultramicrobactéries», y compris en eau douce [30]. Les bactéries présentent de nombreuses formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées. Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordançage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes [31]. Après leurs réactions avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir.



(A) Bactéries à gramme positive

(B) Bactéries à gramme négative

Figure. II. 3. (A) Bactéries à gramme positive, (B) Bactéries à gramme positive

II. 2. 4. 1a Bactéries à gram négatif

✓ Escherichia coli

Le genre Escherichia fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'Escherichia coli, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d'Escherichia coli ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères. L'Escherichia coli est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale.



Figure. II.4. Vue sous le microscope électronique de bactérie Escherichia coli

II. 2. 4. 1b. Bactéries à gram positif :

✓ **Staphylococcus aureus**

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant du NaCl à 5% et pour certains jusqu'à 10% à 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Le staphylococcus est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). Staphylococcus aureus se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom.



Figure. II. 5. Infection à Staphylococcus aureus



Figure. II. 6. Illustration de colonie de la bactérie Staphylococcus aureus

II. 2. 5. Lecture des résultats :

L'apparition d'une zone claire autour des puits (à l'intérieur duquel aucune croissance bactérienne n'est observée) indique l'action antibactérienne des solutions éthanoliques de l'édaravone et ses dérivés vis-à-vis la souche bactérienne testée. Les diamètres de la zone claire sont mesurés à l'aide d'une règle graduée, et les résultats obtenus sont exprimés en millimètre. Les bactéries seront classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivantes : résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible [39].

Tableau II.1 .Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition :

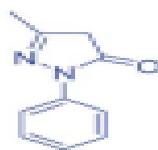
| Diamètre d'inhibition(x) | Degré de sensibilité des germes | Résultat |
|-----------------------------|---------------------------------|----------|
| $X \leq 8$ mm | Résistance | - |
| $8 \text{ mm} < X < 14$ mm | Sensibilité limité | + |
| $14 \text{ mm} < X < 20$ mm | Sensibilité moyenne | ++ |
| $X \geq 20$ mm | Très sensible | +++ |

II. 3. Pyrazolone antioxydant et antibactérien

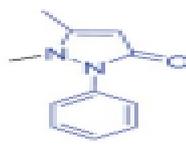
La pyrazolone est un motif structurel présent dans de nombreux produits naturels et médicaments de synthèse. Les composés organiques hétérocycliques contenant des noyaux pyraolones, comme l'édaravone (MCI-186, Figure. I. 5), a été largement utilisé pour traiter de nombreuses maladies de cerveau et l'ischémie myocardique. Phénazone et prophéazone (Figure. II. 5) ont été largement utilisés comme agents antipyrétiques et analgésiques. Récemment, les chimistes médicaux ont commencé à prêter attention aux dérivés pyrazolones, qui ont de puissantes bio activités comme l'inhibition de l'intégrase du VIH-18 (composé A, Figure. II. 5), l'activité luciférase BAF3/TPO9 (composé B), etc. Par conséquent, la recherche de méthodes efficaces, concises et respectueuses de l'environnement pour la synthèse de ce type de composé est un domaine intéressant en chimie, notamment en chimie de synthèse organique.

Les composés à base d'edaravone (pyrazolone) constitue un axe de recherche vaste et polyvalent dans la synthèse des hétérocyclique, qui ont été largement utilisé dans la synthèse de composés hétérocycliques, y compris agents anticancéreux, herbicides, pesticides, anxiolytiques, antileishmaniens, antioxydant et antibactériens (Figure. II. 6). Dans la suite de ce travail, nous présentons une étude bibliographique détaillée sur les pyrazolones, leurs propriétés, leurs méthodes de synthèse ainsi que leurs domaines d'application en chimie, en

biologie et en médecine. Nous pensons aussi que des molécules de type azoïques à base de pyrazolone peuvent avoir des activités biologiques puissantes [40, 41]



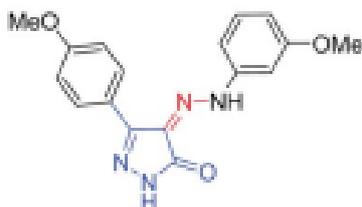
Edaravone



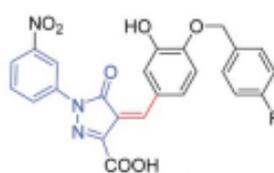
Phenazone



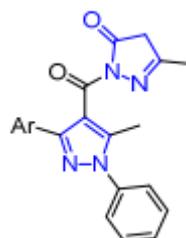
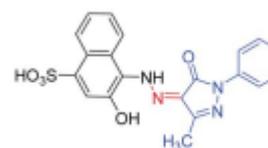
Propheazone



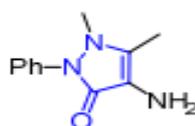
HIV : inhibiteur intgrase



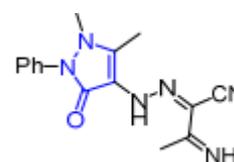
**BAF-3 TPOLuciferase
activité**



Antioxydant



Antioxydant



Antioxydant

Figure. II. 7. Quelques exemples de l'activité biologique

REFERENCES BIBLIOPGRAPHIQUES

- [1] (Badawey and Ashmawey, 1998; Geronikaki et al., 2004; Gu' r-soy et al., 2000; Haddad et al., 2004; Kees et al., 1996; Tani-tame et al., 2004).
- [2] Elmorsi and Hassanein, 1999; Foulds, 1998; Ito et al., 2001; Kepe et al., 1998; Yang et al., 2000).
- [3] Jackson, M., Stadthagen, G., & Gicquel, B. (2007). Long-chain multiple methyl-branched fatty acid-containing lipids of *Mycobacterium tuberculosis*: biosynthesis, transport, regulation and biological activities. *Tuberculosis*, 87(2), 78-86.
- [4] Pelikan, E. W. (1995). *Glossary of terms and symbols used in pharmacology*. Boston University School of Medicine, Pharmacology & Experimental Therapeutics.
- [5] McNaught, A. D. (1997). *Compendium of chemical terminology* (Vol. 1669). Oxford: Blackwell Science.
- [6] Thomas, D. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges, p29-174.
- [7] Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, p.108
- [8] Souchard, J., Arnal, J., Rochette, L. Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*, 2002, vol. 23, pp. 245 - 257. Ventura, R., Lombes, A. Mitochondrie et pathologies. Médecine-Sciences Flammarion Edition, 2002, Chapitre 26, pp. 290.
- [9] Gardès-Albert, M., Jore, D. Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. *Radicaux libres et stress oxydant*. Paris, Lavoisier, 2005, pp. 1-23.
- [10] Curtin, F., Donovan, M., Cotter, T. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *Journal of Immunological Methods*, 2002, vol. 265, pp. 49 – 72
- [11] Owuor, E., Kong, A. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochemistry and Pharmacology*, 2002, vol. 64, pp. 765 - 770.
- [12] Holgrem, A. Redox regulation of genes and cell function. In: *Critical review of oxidative stress and aging*. Vol II. RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific, 2003, pp. 102 - 111.
- [13] Levesque, E. Oligo-elements et stress oxydant. *Revue de presse Source : Favier lab Bioch Grenoble*, 2006, pp. 10 - 15.
- [14] Meziti .A (2007). *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Etude in vitro et in vivo*. Mémoire de Magister Université de Batna.p 30-35-49-67.
- [15] Bonnefont-Rousselot, D., Raji, B., Walrand, S., Gardes-Albert, M., Jore, D., Legrand, A., et Vasson, M. P. (2003). An intracellular modulation of free radical production could

contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52(5), 586-589.

- [16] Ardestani, A., et Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104(1), 21-29 . Touafek, K. (2010). Contribution à l'étude et à la conception d'un système énergétique utilisant des capteurs hybrides photovoltaïques thermiques (Doctoral dissertation, Ecole nationale supérieure polytechnique). Marfak, A., Trouillas, P., Allais, D. P., Calliste, C. A., et Duroux, J. L. (2003). Redox reactions obtained by γ irradiation of quercetin methanol solution are similar to in vivo metabolism. *Radiation research*, 159(2), 218-227.
- [17] Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- [18] Behera, B. C., Verma, N., Sonone, A., & Makhija, U. (2006). Determination of antioxidative potential of lichen *Usnea ghattensis* in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 39(1), 80- 85.
- [19] Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., et Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3), 571-577.
- [20] Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- [21] Frankel, E. N., et Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941. Han, Y. (2007). Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 14(11), 733-738.
- [22] Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., et Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.
- [23] Svoboda, K. P., & Hampson, J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW, 1-17.
- [24] Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., et Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale*, 30(21), 1076-1081

- [25] Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Ming-Jiuan W. (2003). Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.
- [26] Yu R., Mandlekar S., Tony Kong A.N. (2000). "Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c". *Molecular Pharmacology*, 58: 431- 437.
- [27] Barlow S M. (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson. B.J.F. *Food Antioxidants*. pp 253-307.
- [28] Ito N., Fukushima S., Tsuda H. (1985). "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants". *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15: 109-150.
- [29] Yaacoub R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés.
- [30] Hahn M. W., Lunsdorf H., Schauer M., Hofle M. G., Boenigk J., and Stadtler P., Isolation of novel ultra-micro-bacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Applied Environmental Microbiology*, 2003, 69:1442-1451.
- [31] Leclerc H., Gaillard J-L, Simonet M., *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*, Doin Editeur, Paris, 1995, p.506.
- [32] Wu, C., Huang, M., Lin, Y., Ju, H., Ching, H. (2007). Antioxidant properties of Cortex fraxini and its simple coumarins. *Food Chem*, 104: 1464–1471.
- [33] Hadbaoui, Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat, Université de Kasdi Merbah Ouargla Algérie.
- [34] Burits, M., Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res* : 14, 323-328.
- [35] Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbe, C., Guerrero, J. (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus*
- [36] Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. et Zinkernagel, M.D. M. R. (2005). *Medical Microbiology*. Edition Thieme. 698.
- [37] Irving, W., Ala'Aldeen, D. et Boswell, T. (2005). *Medical Microbiology*. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350.
- [38] Benzeggouta, N. (2005). Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme Aliments. Thèse de magister en pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine, p14-18.

[39] Beddiar, H. (2016). Etude de *Juniperus phoenicea* L de la région de Tébessa: composition chimique, Activités antioxydantes, et Activités microbiologiques. Mémoire de Master, Université Larbi Tébessi-Tébessa, p33-53.

[40] V.L.M. Silva, J. Elguero, A.M.S. Silva, Current progress on antioxidants incorporating the pyrazole core, *European Journal of Medicinal Chemistry* (2018), doi:10.1016/j.ejmech.2018.07.007.

[41] Fuchao Yu, Zhiqiong Chen, Xiaopan Hao, Xiuyang Jiang, Shengjiao Yan and Jun Lin, Three component solvent-free synthesis of 1H-pyrazol5(4H)-one-based heterocyclic ketene aminal derivatives³, *RSC Advances*, DOI: 10.1039/c3ra41547c

CHAPITRE III.

Synthèse et évaluation biologique des pyrazolones

III. 1. Introduction

Au cours de ces dernières années la chimie des pyrazolones (edaravone) a connu un développement intensif vue l'importance de cette classe d'hétérocycle et le nombre d'applications dans le domaine de la chimie thérapeutique et même dans la biologie. Dans ce contexte, ce travail est consacré à la synthèse de quelques composés hétérocycliques à base de pyrazolone (edaravone) et leurs évaluations biologiques. Les composés aux quels nous sommes intéressés sont des dérivés azoïques (aza dye) contenant l'hétérocycle pyrazolone ont été synthétisés et testés en tant que antioxydants et antibactériens. La synthèse des composés ciblés consiste à faire des réactions de copulation de 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) avec des sels de diazonium de certaines amines aromatiques préalablement préparés.

III. 2. Description générale de synthèse des pyrazolones

Le plan générale de synthèse des dérivés pyrazolones utilisés dans ce travail comme antioxydants et antibactériens est subdivisée en trois étapes.

III. 2. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone)

La synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) (**3**) a été réalisée en faisant reagir l'acétoacétate d'éthyl (**1**) avec le phénylhydrazine (**2**) dans l'éthanol comme solvant et en présence tel que (hydroxyde de sodium, acétate de sodium ou la triéthylamine) ou même en absence d'une base la réaction peut avoir lieu. La réaction nécessite un chauffage à reflux et la température est réglée à 80 C° (Schéma. III. 1). Le mécanisme de cette réaction passe tout d'abord par la formation d'une imine par addition de l'amine primaire du phénylhydrazine (**2**) sur la fonction cétone en position (β) de la fonction ester. Ensuite, l'amine secondaire du phénylhydrazine (**2**) se condense spontanément sur la fonction ester de l'acétoacétate d'éthyl (**1**) pour fournir le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) désirée avec le départ du groupe éthanolate (EtO⁻) comme le montre la (Schéma. III. 2).

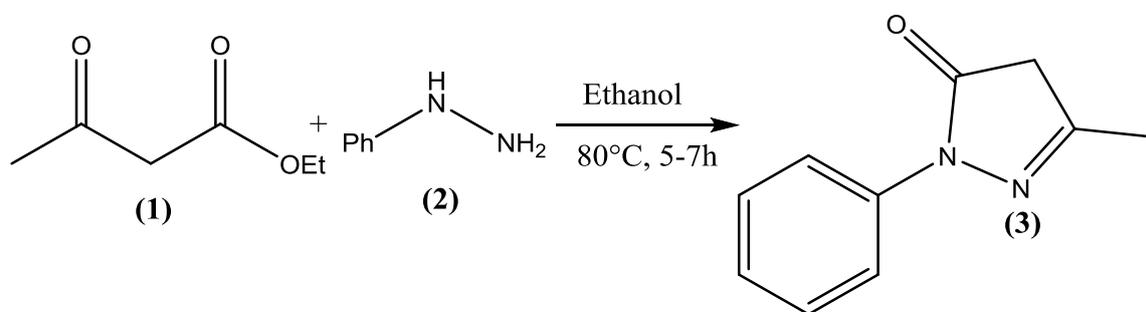


Schéma. III. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone)

✓ Mécanisme de formation 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone)

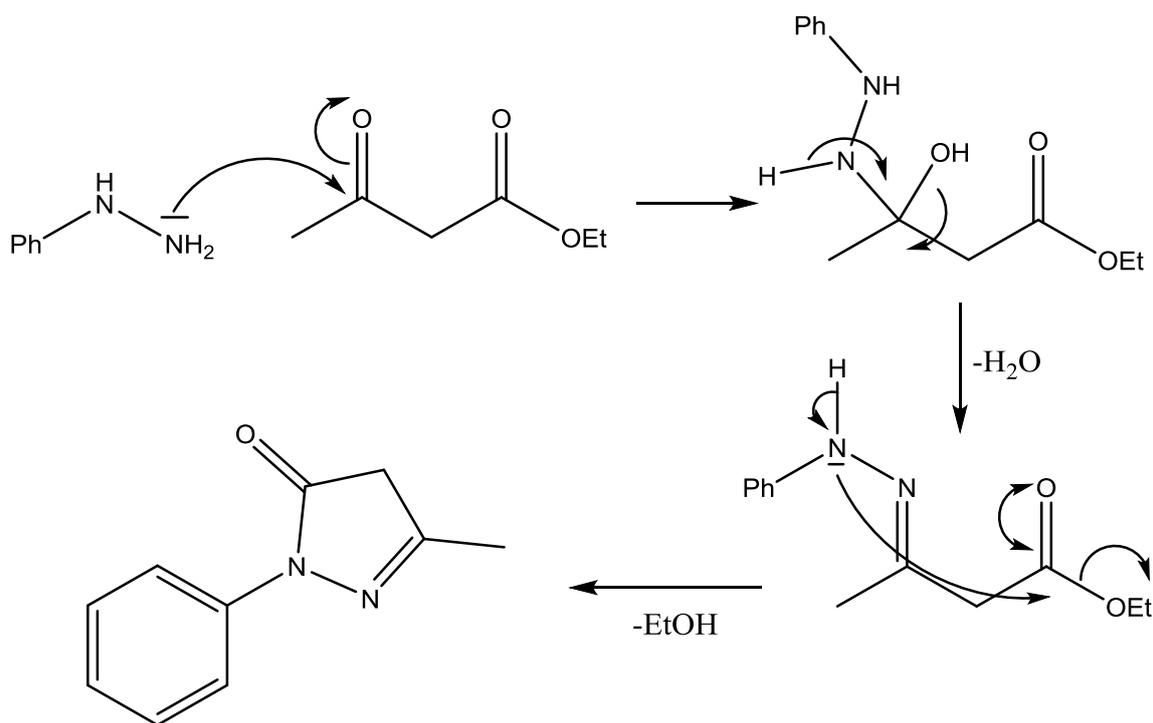


Schéma. III. 2. Mécanisme de formation 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone)

III. 2. 2. Synthèse des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques

La synthèse des sels diazomium est une réaction qui consiste à faire réagir les amines aromatiques avec le nitrite de sodium en milieu acide à basse température (*Schéma. III. 3*). Au cours de ce travail la diazotation des amines aromatiques (**4**) est effectuée en présence de l'acide chlorhydrique et le nitrite de sodium en refroidissant bien le mélange réactionnel entre 0-5 °C à l'aide d'un mélange de glace et du sel du table afin d'éviter l'augmentation de la température du mélange lors l'ajoute du nitrite de sodium qui réagit rapidement avec les amines en donnant des sels de diazomium, qui sont des intermédiaires réactionnels instables et peuvent se décomposer spontanément avec l'élévation de la température. Le mécanisme de diazotation débute par réaction du nitrite de sodium avec l'acide chlorhydrique pour donner l'ion nitrosonium qui réagit avec l'amine primaire pour donner un dérivé azaoxime qui se transforme en sel diazomium (**5**) avec l'élimination d'une molécule d'eau comme le montre le (*Schéma. III. 4*) [2].

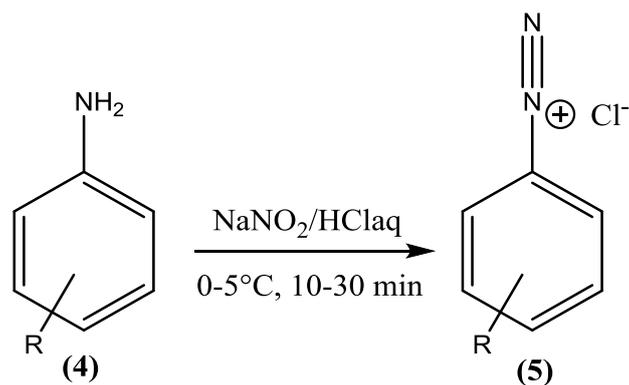


Schéma. III. 3. Synthèse des sels diazonium par diazotation des amines aromatiques

✓ Mécanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques

Étape. 1. Addition de l'ion nitrosonium

Étape. 2. Transfert de proton

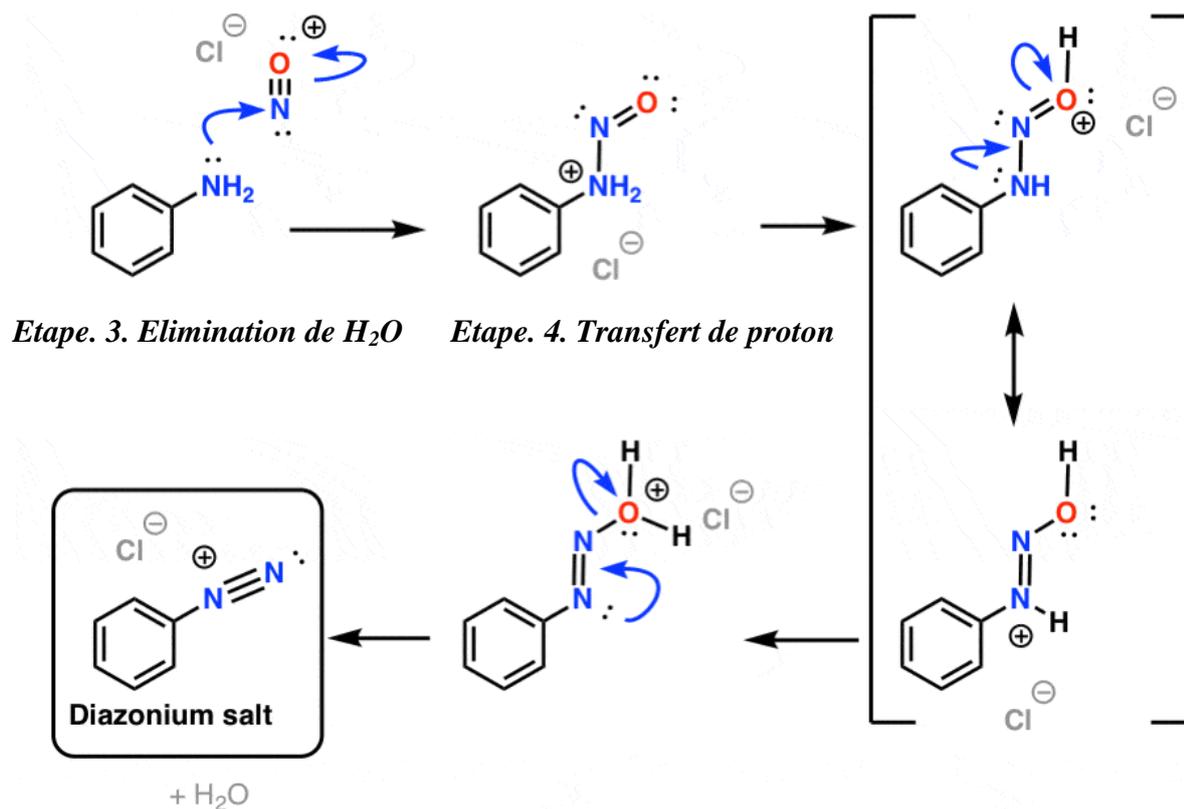


Schéma. III. 4. Mécanisme de formation des sels de diazonium par diazotation des amines aromatiques

III. 2. 3. Copulation des sels de diazonium avec le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone)

La copulation des sels de diazonium est une réaction importante en synthèse organique et très utilisée pour l'élaboration et la conception du colorant azoïques qui ont diverses applications dans la chimie. La réaction des sels de diazonium préalablement synthétisés avec le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) donne des dérivés azoïques avec des couleurs caractéristiques et températures de fusion totalement différentes (*Schéma. III. 5*). Donc, la 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone) (**3**) dissous dans une solution éthanolique contient l'acétate de sodium a été ajoutée aux sels de diazonium (**5**) à 5°C, puis le mélange est porté sous agitation pendant 30min à température ambiante. Le mécanisme de cette réaction consiste à former l'anion énolate (**3'**) de l'edaravone en milieu basique (acétate de sodium), cette forme énolate se condense sur l'ion diazonium pour donner des composés azoïques colorés (**6**) (*Schéma. III. 6*) [3].

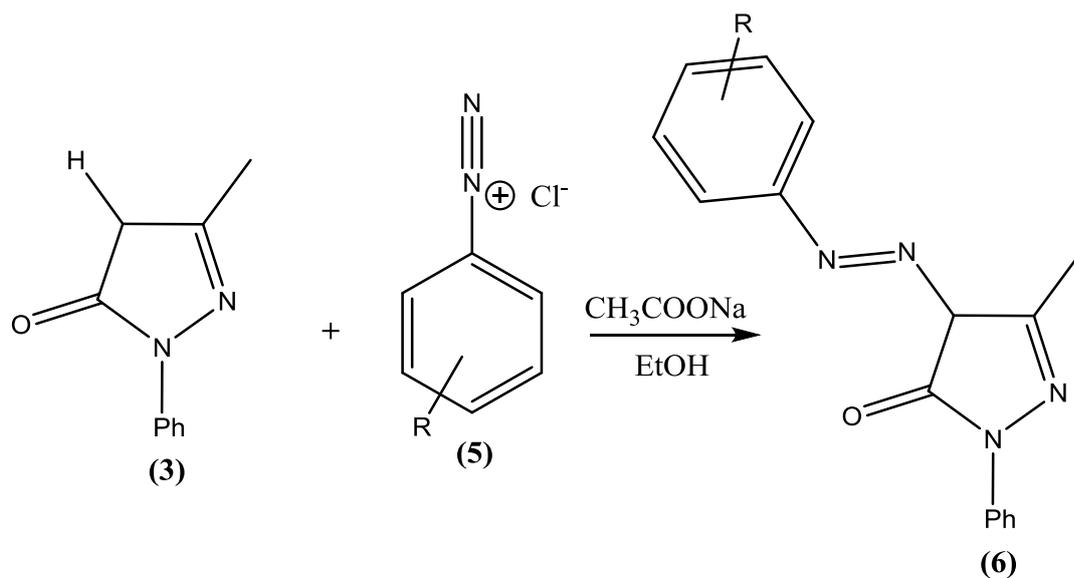


Schéma. III. 5. Copulation des sels de diazonium le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone)

✓ Mécanisme de copulation des sels de diazonium avec l'edaravone

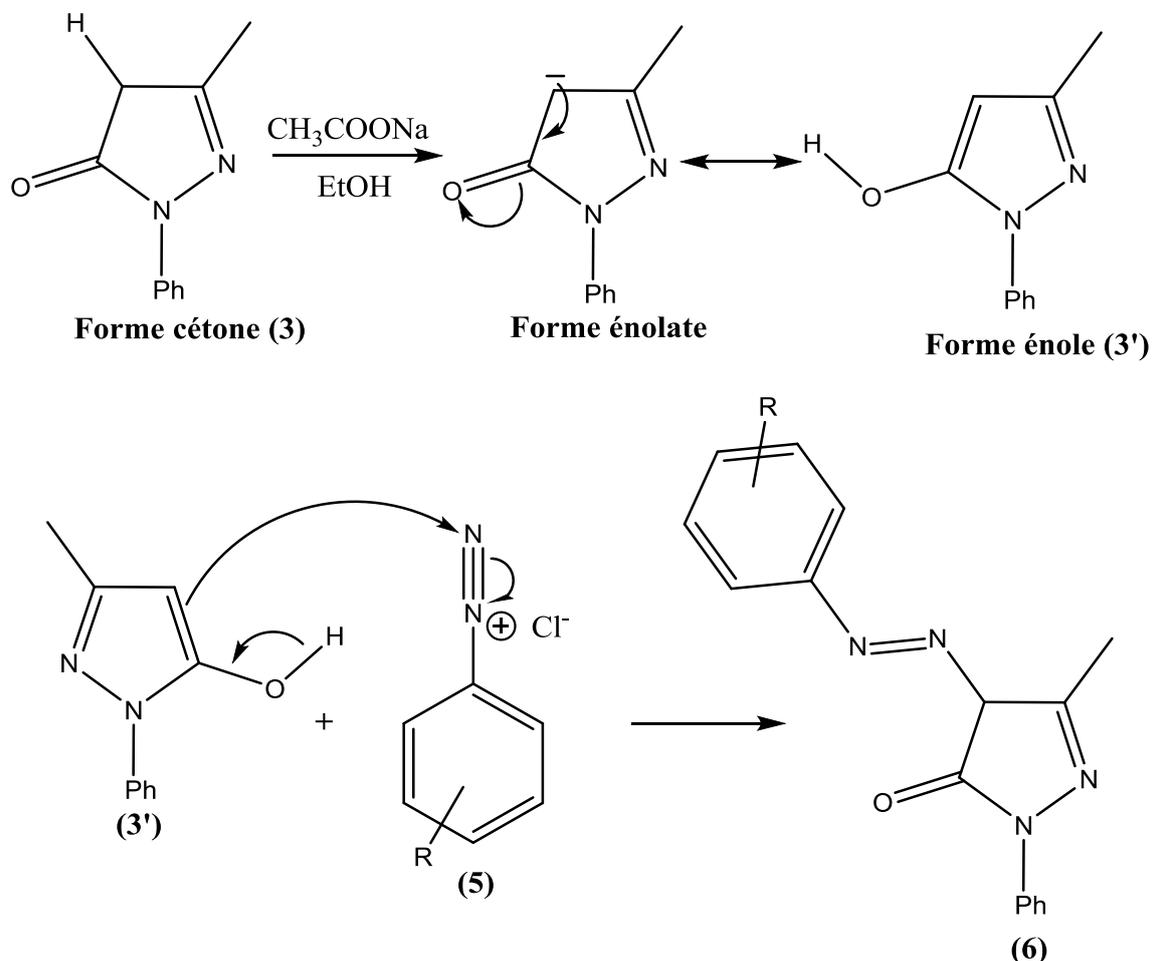


Schéma. III. 6. Mécanisme de copulation des sels de diazonium l'edaravone

III. 2. 4. Protocoles expérimentales de la synthèse des pyrazolones

III. 2. 4. 1. Synthèse du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone)

Dans un ballon bicolle de (250ml) équipé d'un montage à reflux et agitation magnétique, on introduit (20g ,0.226 mol) d'acétoacétate d'éthyle avec (20g, 0.184 mol) de la phénylhydrazine et 50ml d'éthanol absolu. Le mélange est porté à reflux (80°C) pendant 4 à 6h. Après laisser le mélange refroidit à la température ambiante un solide jaune foncé est précipité puis filtré. Le solide est lavé avec de l'eau et l'éthanol froid pour éliminer les traces des substrats de départ. Le produit brut ainsi séparé est recristallisé dans un peu d'éthanol pour obtenir le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone) sous forme d'une solide jaune pale avec une grande pureté.

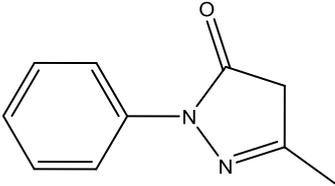
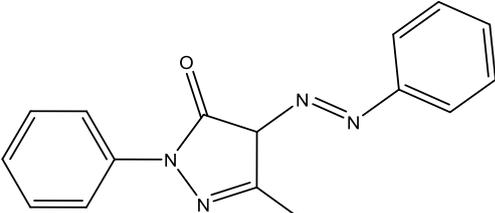
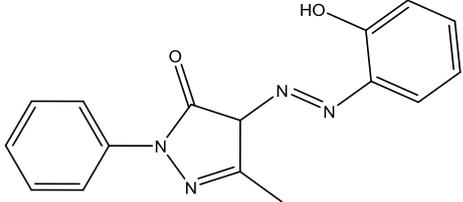
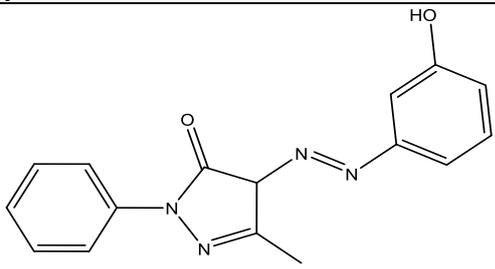
III. 2. 4. 2. Synthèse des sels diazomium par diazotation des amines aromatiques

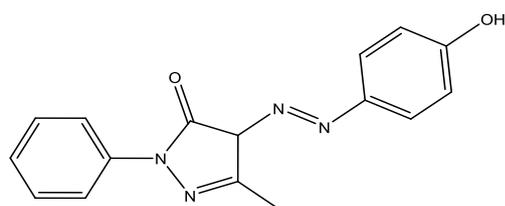
Dans un ballon bi colle de (250ml) équipé d'une ampoule d'addition et agitation magnétique, on dissous l'amine aromatique comme l'aniline dans une solution acide chlorhydrique HCl à 5%. Le montage est refroidit à l'aide d'un bain de glace et de sel pour maintenir la température entre 0-5°C. Après avoir refroidir le mélange réactionnel on ajoute goutte à goutte à l'aide d'une ampoule de coulée le nitrite de sodium (0.035mol) dissous dans le HCl. Lors que toute la quantité du nitrite de sodium a été ajoutée on laisse le mélange agité pendant 10 à 30 min en gardant la température entre 0-5°C. La réaction est terminée les sels de diazonium obtenus in situ sont ensuite engagés dans les réactions de copulation avec 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone).

III. 2. 4. 3. Synthèse des dérivés azoïques par copulation des sels de diazonium avec le 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (Edaravone)

Dans un arlenmayer de 250ml, on introduire 50ml d'éthanol absolu sous agitation on ajoute (1g 0.012 mol) d'acétate de sodium et (1 g 0.005mol) du 5-méthyl 2-phényl pyrazol-3-one (edaravone). Cette solution est agitée pendant 30 à 60 min. Lors que toute la quantité d'edaravone est totalement dissoudre dans l'éthanol, on ajoute la solution acide du sel de diazonium (aniline par exemple) goutte à goutte et le mélange est agité durant 30 min. Le mélange prendre la couleur des dérivés azoïques formés qui sont obtenus sous forme de solide ou poudre de couleur caractéristique pour chaque composé azoïque. La structure, l'aspect, la température de fusion (Tf) ainsi que le rendement (Rt) des produits préparés sont regroupés dans le tableau suivant (Tableau. III. 1).

Tableau. III. 1. Edaravons et dérivés azoïques synthétisés

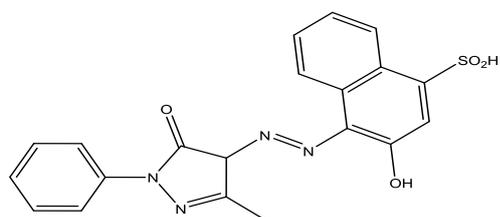
| Structures | Aspects | Tf (°C) | Rt (%) |
|---|--|-----------|--------|
|  <p>5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (Edaravone)</p> |  | 128 | 84 |
|  <p>(E)-5-methyl-2-phenyl-4-(phenyldiazenyl)-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one</p> |  | 158 | 60 |
|  <p>(E)-4-((2-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one</p> |  | 260 | 63.4 |
|  <p>(E)-4-((3-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one</p> |  | [202-204] | 40 |



(E)-4-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one



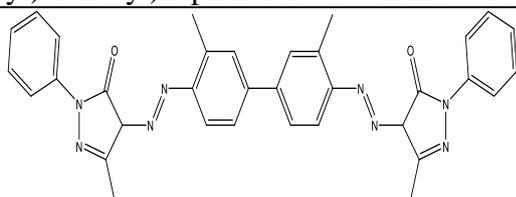
[158 - 160] 66



(E)-3-hydroxy-4-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)naphthalene-1-sulfonic acid



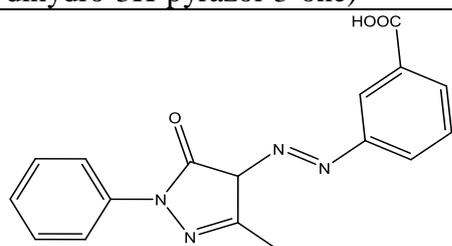
[142-144] 57.5



4,4'-((1E,1'E)-(3,3'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(diazene-2,1-diyl))bis(5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one)



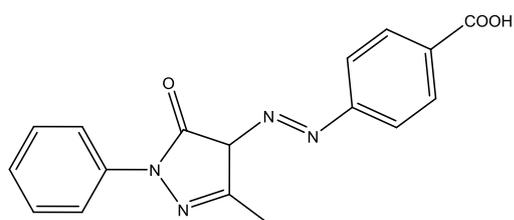
122 54,4



(E)-3-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid



266 69

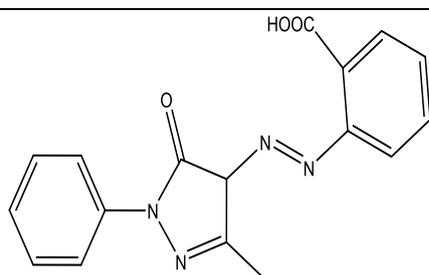


(E)-4-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid



282

67



(E)-2-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid



258°C

67.6

III. 3. Évaluation de l'activité biologique des pyrazolones

Évaluation de l'activité biologique des molécules pyrazoles synthétisés est articulées sur deux axes principaux : La première partie est consacrée à l'activité antioxydant des différentes solutions éthanoliques des dérivés azoïques des pyrazolone en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH. La deuxième partie consiste à l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).

III. 3. 1. Évaluation de l'activité antioxydant

L'activité anti-radicalaire des différents composés chimiques a été évaluée in vitro, par le test du piégeage du radical DPPH* (2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl).

III. 3. 1. 1. Test du piégeage du radical libre DPPH

- ✓ Le DPPH est solubilisé dans le méthanol ou l'éthanol à raison de 0.025g/l ;
- ✓ Différents concentrations des solutions d'edaravone et de ses dérivés (5, 2.5, 1.25, 0.625, et 0.312 mg/ml) sont préparés dans l'éthanol ou méthanol;

- ✓ Le mélange réactionnel est constitué de 50µl de chaque solution d'edaravone ou de ses dérivés ajouté à 1,95ml de la solution alcoolique de DPPH ;
- ✓ Le mélange est vigoureusement agité, puis incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes ;
- ✓ Un contrôle négatif, est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'échantillon par 50µl d'éthanol ou de méthanol.
- ✓ L'absorbance des mélanges réactionnels des échantillons et du contrôle sont lus à une longueur d'onde de 515 nm par un spectrophotomètre.
- ✓ Toutes les expériences sont répétées trois fois.

III. 3. 1. 2. Résultats et discussions

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Abs control} - \text{Abs test}) \times 100 / \text{Abs control}$$

Tableau. III. 2. Le taux d'inhibition calculée pour différentes concentrations de l'edaravone.

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|-----------------------|-----------------------|
| 0.156 | 10.31 |
| 0.312 | 35.23 |
| 0.615 | 61.86 |
| 1.25 | 78.19 |
| 2.5 | 79.16 |
| <u>5</u> | <u>89.36</u> |

Tableau. III. 3. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de PPH

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|-----------------------|-----------------------|
| 0.156 | 3.38 |
| 0.312 | 6.52 |
| 0.615 | 6.76 |
| 1.25 | 21.25 |
| 2.5 | 24.71 |
| <u>5</u> | <u>37.35</u> |

Tableau. III. 4. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'OPH

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|-----------------------|-----------------------|
| 0.156 | 18,31 |
| 0.312 | 18,56 |
| 0.615 | 19,12 |
| 1.25 | 19,53 |
| 2.5 | 50,62 |
| <u>5</u> | <u>55,30</u> |

Tableau. III. 5. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de MPH

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|-----------------------|---------------------|
| 0.156 | 13,77 |
| 0.312 | 18,02 |
| 0.615 | 22,39 |
| 1.25 | 30,57 |
| 2.5 | 47,59 |
| <u>5</u> | <u>49,60</u> |

Tableau III. 6. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de TOL

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|-----------------------|---------------------|
| 0.156 | 2,83 |
| 0.312 | 8,83 |
| 0.615 | 10,64 |
| 1.25 | 15,06 |
| 2.5 | 10,19 |
| <u>5</u> | <u>31,82</u> |

Tableau. III. 7. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'ANI

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|----------------------------------|---------------------------|
| 0.156 | 4,66 |
| 0.312 | 5.00 |
| 0.615 | 5,71 |
| 1.25 | 6,36 |
| 2.5 | 10,30 |
| <u>5</u> | <u>15,60</u> |

Tableau. III. 8. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de PA

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 0.156 | 8,50 |
| 0.312 | 9,50 |
| 0.615 | 10,80 |
| 1.25 | 14 |
| 2.5 | 23,31 |
| <u>5</u> | <u>31,80</u> |

Tableau. III. 9. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de MA

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|----------------------------------|---------------------------|
| 0.156 | 3,9473 |
| 0.312 | 4,3062 |
| 0.615 | 34,2105 |
| 1.25 | 46,5311 |
| 2.5 | 40,6698 |
| <u>5</u> | <u>33,1339</u> |

Tableau. III. 10. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'OA

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition% |
|------------------------------|---------------------------|
| 0.156 | 29,20 |
| 0.312 | 35,92 |
| 0.615 | 38,02 |
| 1.25 | 42,64 |
| 2.5 | 49,78 |
| <u>5</u> | <u>58,82</u> |

Tableau. III. 11. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations d'ACET

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|------------------------------|------------------------------|
| 0.156 | 8,53 |
| 0.312 | 14,02 |
| 0.615 | 20,93 |
| 1.25 | 25,20 |
| 2.5 | 32,92 |
| <u>5</u> | <u>33,94</u> |

Tableau. III. 12. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de 4A4N

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|------------------------------|------------------------------|
| 0.156 | 0.36 |
| 0.312 | 30.76 |
| 0.615 | 43.58 |
| 1.25 | 44.32 |
| 2.5 | 93.77 |
| <u>5</u> | <u>97.43</u> |

Tableau. III. 13. Taux d'inhibition calculé pour différentes concentrations de SULF

| Concentration (mg/ml) | Taux d'inhibition (%) |
|------------------------------|------------------------------|
| 0.156 | 0,25 |
| 0.312 | 0,50 |
| 0.615 | 0,75 |
| 1.25 | 5,68 |
| 2.5 | 38,25 |
| <u>5</u> | 50,75 |

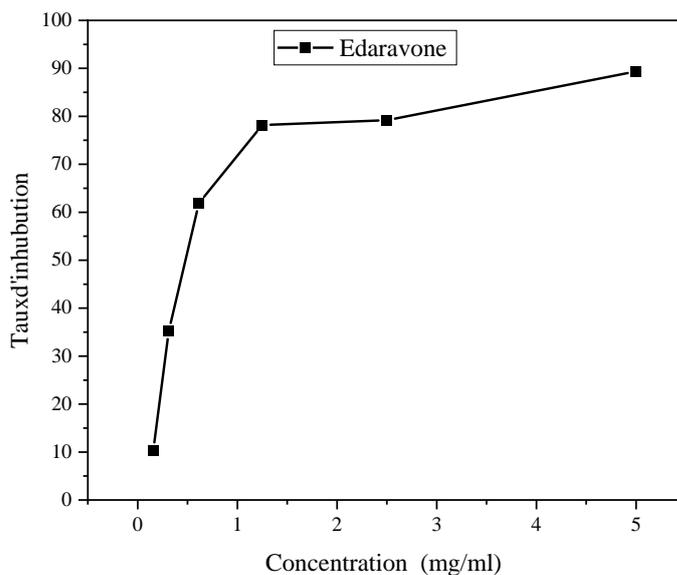


Figure. III. 1. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution, éthanolique de l'edaravone (ED)

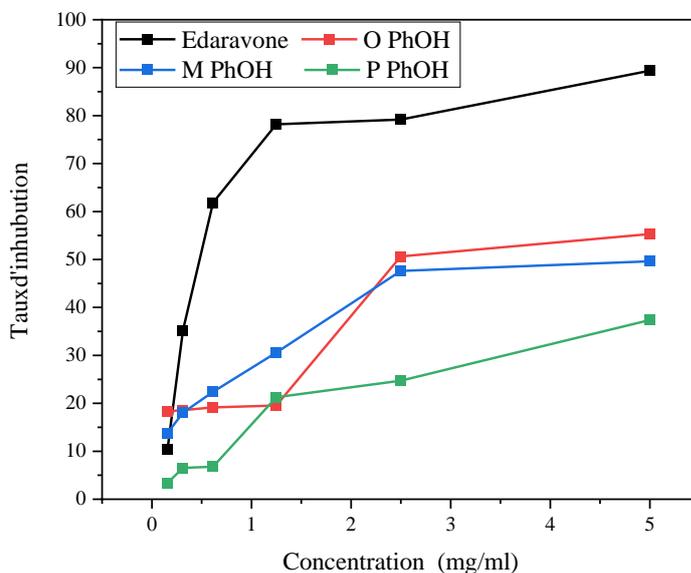


Figure. III. 2. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED) et ces dérivés (M, O, et P Phénol)

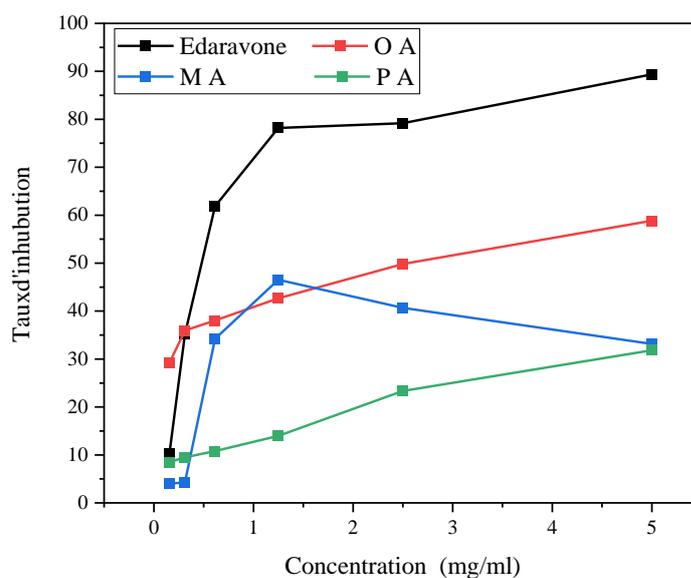


Figure. III. 3. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edravone (ED) et ses dérivés (M, O et P Acide)

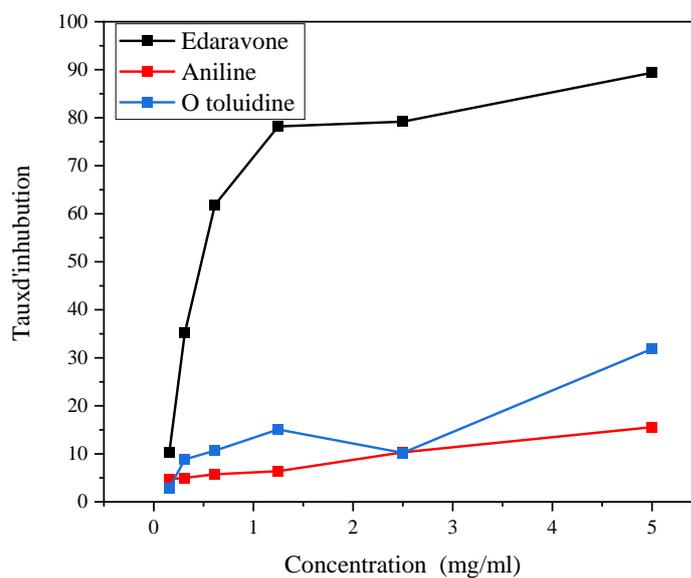


Figure. III. 4. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edravone (ED) et ses dérivés (aniline et Tolidine)

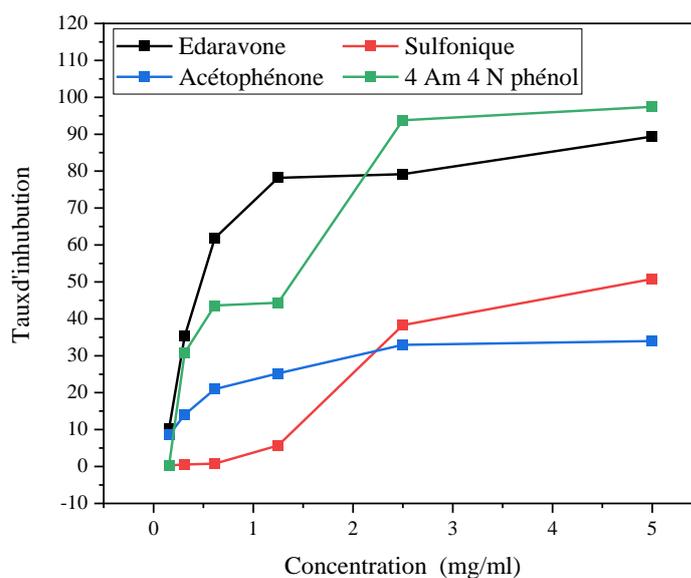


Figure. III. 5. Taux d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de solution éthanolique de l'edaravone (ED) et ses dérivés (acétophénone, acide sulfonique 4A4N PPH)

Tableau. III. 14. Valeurs d'IC 50 des pyrazolones synthétisés

| Pyrazolone | Inhibition (IC50) |
|---|--------------------------|
| Edaravone | 0.937 |
| 4amino 4 nitro phenol | 1.54 |
| Ortho aminobenzoic acid | 3.02 |
| Ortho amino phenol | 3.904 |
| Acide amino-1-hydroxy-2-naphtalène sulfonique 4 | 4.06 |
| Méta amino phenol | 4.265 |
| Meta Aminobenzoic acid | 6.43 |
| Para amino phenol | 6.521 |
| Acétophenone | 7.52 |
| Para Aminobenzoic acid | 8.43 |
| O tolidine | 8.710 |
| Aniline | 20.09 |

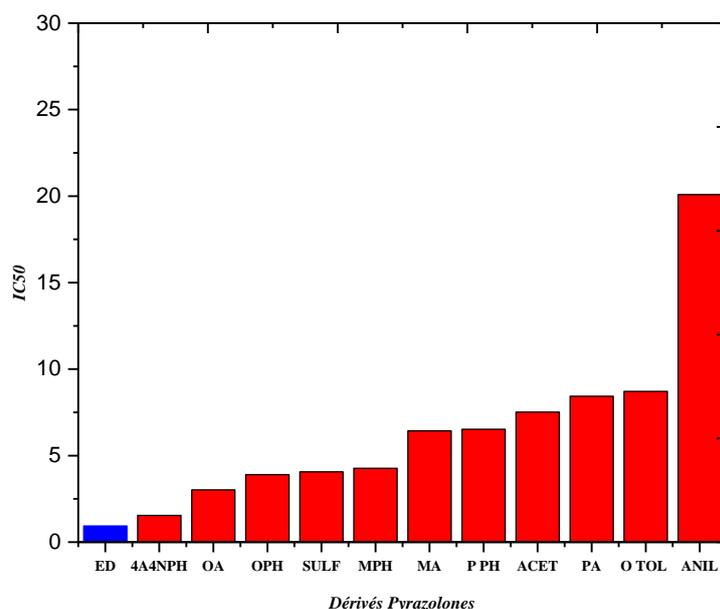


Figure. III. 6. Variation d'IC50 en fonction des dérivés pyrazolones

III. 3. 1. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

III. 3. 1. 2.1. Les souches testées

Les souches testées proviennent de laboratoire de microbiologie de l'Université de Saida elles sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III .15 .les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes.

| SOUCHE | CODE | GRAM |
|------------------------------|------------|----------|
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25923 | Négative |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923 | Positive |

III. 3. 1. 2. 2. Préparation des puits

L'activité antibactérienne des différentes solutions éthanoïque du l'édaravone et ses dérivés a été étudiée pour chaque souche bactérienne. À partir d'une culture de 18 à 20 h (10^5 - 10^6 UFC/mL). L'ensemencement de l'inoculum de 1 mL est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 mn, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm). Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des produits sous la gélose. Ensuite, 50 ul du produit dilué est distribué dans chaque puit. Après diffusion (20 mn), les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37 °C pendant 24 h, et les

auréoles d'inhibition sont mesurées par un pied à coulisse. Le diamètre du puits (8 mm) est inclus dans les tableaux des résultats.

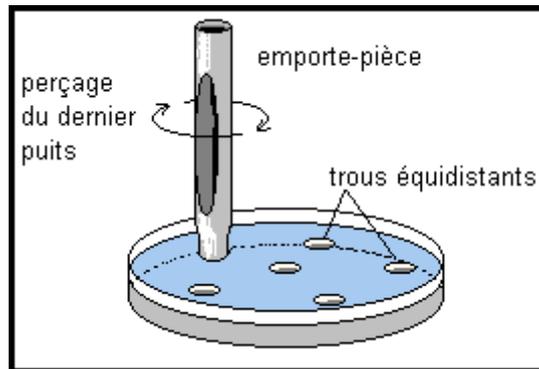


Figure III.7. Représentation des puits

III. 3. 1. 2. 3. Préparation de l'inoculum

- L'ensemencement des souches bactériennes sur la gélose nutritive et l'incubateur à 37°C pendant 24h.
- On a prélevé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, 3 à 5 colonies bien isolées.
- Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser la suspension bactérienne (la DO de suspension bactérienne entre 0.08 à 0.12 à 625 nm)

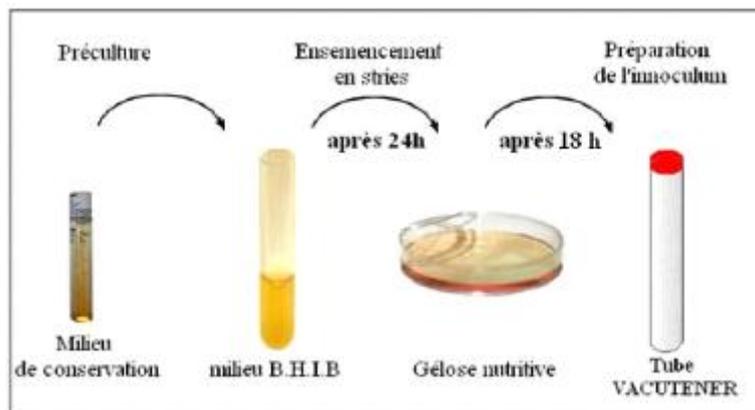


Figure. III.8. Préparation de l'inoculum.

III. 3. 1. 2. 4. L'ensemencement

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen ;
- Immerge un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- En fait Frotter l'écouvillon sur les boîtes pétrie qui contient la gélose nutritif (Mueller Hinton) ;

- L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois. sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose [38].

III. 3. 1. 2. 5. L'application des puits

Une fois les géloses Muller-Hinton sont ensemencées, les puits sont troués sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzen, en effet , on prélève 10 μ l et on l'a mit dans les puits . (Dans chaque boîte quatre trois puits ont été réalisée à une seule concentration(C=0.05mg/ml) Pour le contrôle négatif (témoin) on le met dans à coté de l'édaravone dans le première boîte pétrie. En fin, les boîtes de Pétri sont laissées dans l'incubateur (37C° pour les bactéries).

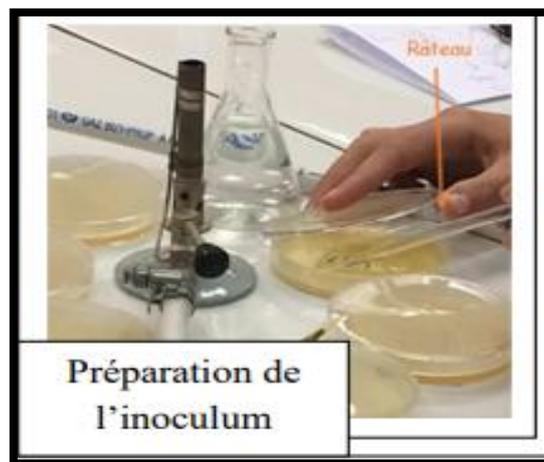
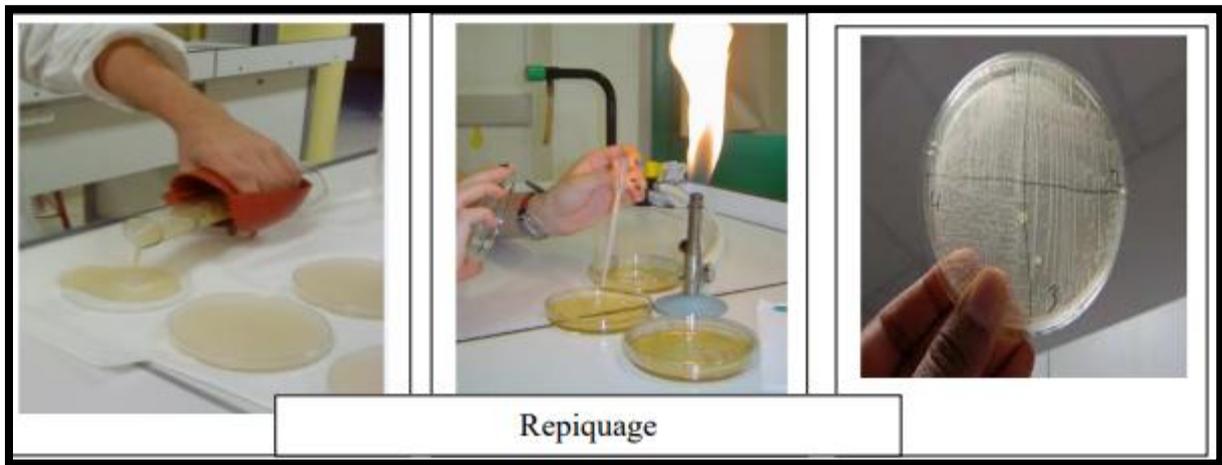


Figure. III. 9. Protocole expérimental

III. 3. 1. 2. 6. Lecture des résultats

Tableau. III. 16. Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)

| Les souches bactériennes | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| Edaravone | 15 | 12 |
| Aniline | - | - |
| Orto-acide benzoïque | - | - |
| Meta-acide benzoïque | - | - |
| Para-acide benzoïque | 15 | 13,5 |
| Orto-aminophenol | 11 | - |
| Meta-aminophenol | 17 | 13 |
| Para-aminophenol | 13,5 | 13 |
| Sulfonique | - | 16 |
| o-tolidine | 16 | 21 |
| 2-amino 2-nitro | - | 16 |
| 4-amino 4 nitro (4A4N) | - | - |
| ACET | 13,5 | 14,5 |

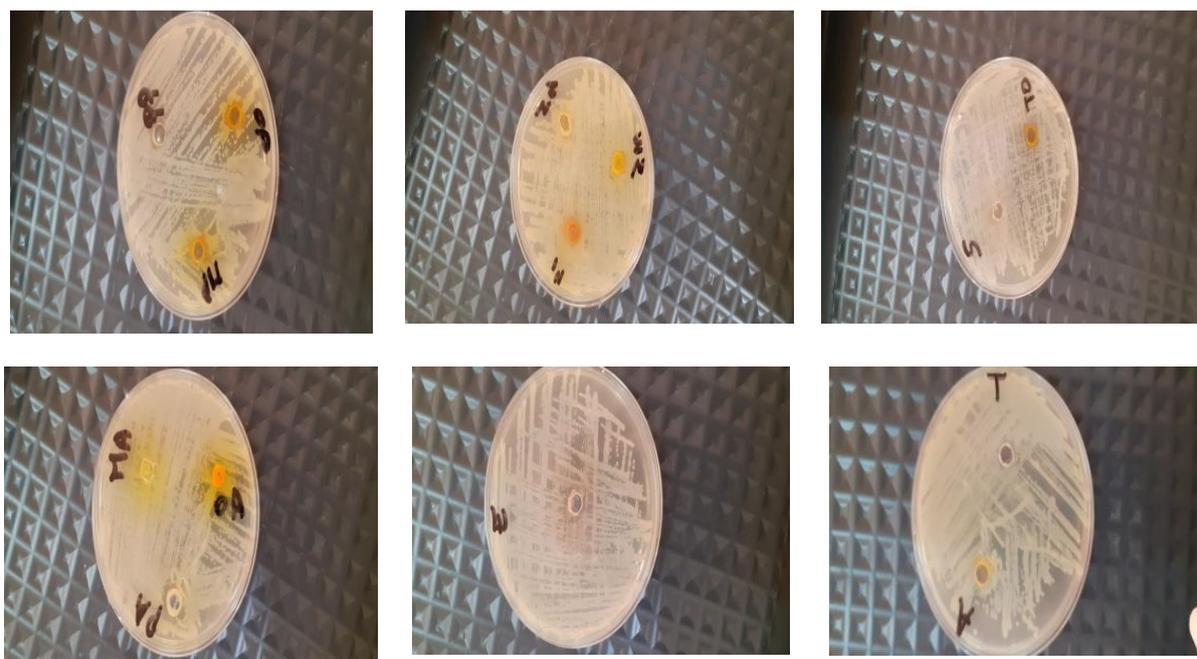


Figure. III.10. Résultat de l'activité antibactérienne

III. 4. Discussion des résultats

L'utilisation des solutions éthanoliques de l'edaravone et ses dérivés comme molécules antioxydants contre le radical DPPH, ainsi que l'évaluation de leurs activités antibactérienne vis-à-vis des deux bactéries utilisées, l'une Gram positives (*Staphylococcus aureus*) et l'autre Gram négative (*Escherichia coli*) en utilisant la méthode de diffusion en puits, a montré une importante activité antioxydante de l'Edaravone suivie par le 4-amino 4-nitro phenol, l'acid ortho aminobenzoïque, et l'ortho aminophenol, ainsi qu'une sensibilité moyenne d'*E. Coli* vis-à-vis du Meta-aminophenol et une forte sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis de l'o-tolidine. Ces résultats sont en bon accord avec ceux trouvée par Wang et collaborateurs [1] qui ont montré une forte activité antioxydante de l'edaravone contre le radical DPPH, qui après clarification par des calculs de théorie fonctionnelle de la densité (DFT), ont permis d'élucider le mécanisme par lequel l'edaravone (3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one) peut piéger le radical DPPH. Ils révèlent que l'abstraction de l'atome H plutôt que la réaction de transfert d'électrons est impliquée dans le processus de piégeage des radicaux de l'edaravone, et que l'atome H en position 4 est facilement extrait. L'enthalpie de dissociation de la liaison C-H de l'edaravone est plus élevée que celle de l' α -tocophérol, ce qui explique la différence d'activité entre les deux antioxydants. La 2-pyrazolin-5-one est reconnue comme le centre actif de l'edaravone. Watanabe collaborateurs [2] a démontré également que l'edaravone prévient les lésions oxydatives de divers organes extracérébraux. Les résultats de ce travail ont montré que nos molécules nouvellement synthétisée a une affinité importante pour la

piégeage des radicaux libres, ce qui indique clairement que l'edaravone et ses dérivés peuvent également être un potentiel agent antioxydant. Par conséquent, l'ordre de réactivité des dérivés pyrazolones vis-à-vis les radicaux libres de DDPH sont dans l'ordre suivant : ED>4A4NPH> OA >OPH> SULF >MPH >MA> PPH> ACET> PA.

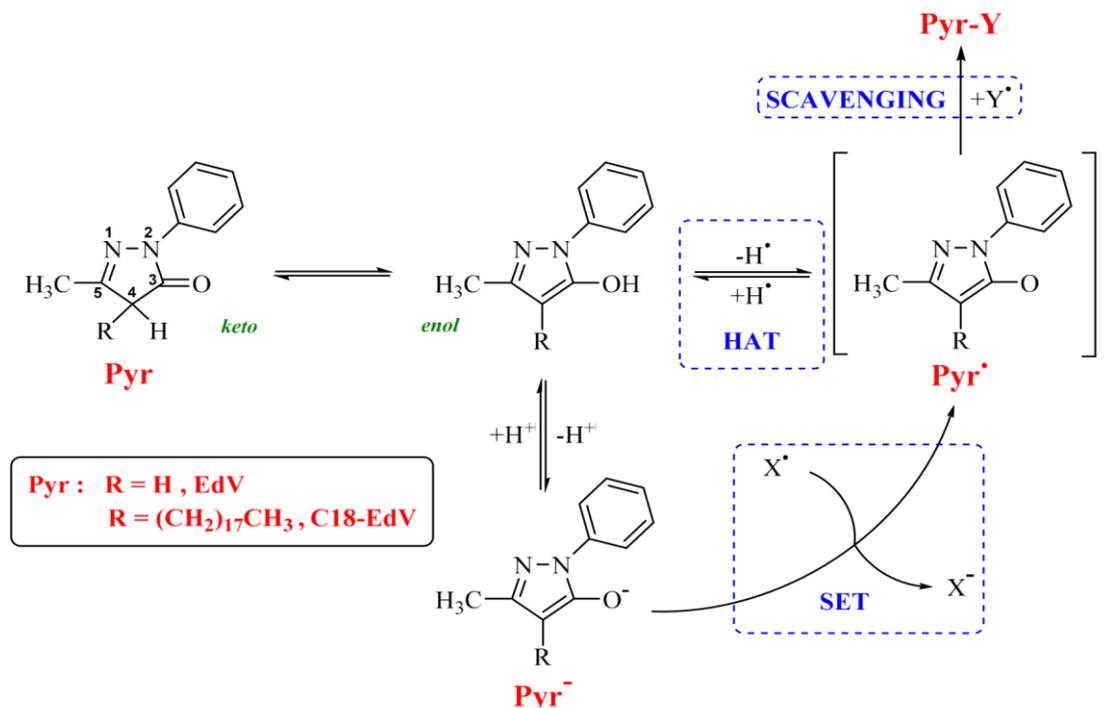


Schéma. III. 7. Mécanisme de l'inhibition des radicaux libres par l'edaravone et ses dérivés

Les tests de l'activité antibactérienne effectués sur les composés pyrazolones azoïques en utilisant deux souches de bactéries à savoir : *E. coli* et *staphylococcus* ont révélé que la plupart des pyrazolones testés possèdent une activité moyenne vis-à-vis l'inhibition de la zone bactérienne, sauf dans le cas de dérivé o-tolidine qui donne une activité antibactérienne importante contre les bactéries *staphylococcus* à Gram-positives (21 mm) et les bactéries *E. coli* à Gram-négatives (16 mm). Ces constatations ont été observées dans des travaux utilisant la même famille d'edaravone azoïques. L'ordre croissant de l'activité antibactérienne des pyrazolones préparées est comme suit pour :

✓ *Staphylococcus* : TOL >2A2N> SULF> ACET> PA >MPH, PPH> ED >ANI,OA,4N4A OPH, MA

✓ *E. coli* : MPH> TOL >ED > PA>PPH >ACET >OPH >ANI, OA, MA, SULF

REFERENCES BIBLIOPGRAPHIQUES

- [1] Mohammad Amin Davasaz Rabbani, Behzad Khalili and Hamid Saeidian .No vel edaravone-based azo dyes: efficient synthesis, characterization, antibacterial activity, DFT calculations and comprehensive investigation of the solvent effect on the absorption spectra . DOI: 10.1039/d0ra06934e , rsc.li/rsc-advances.
- [2] Hemal B. Mehta , Priyank K. Patel , Bharat C. Dixit , Ritu B. Dixit . Synthesis and antimicrobial activities of new mono and bisphenyl linked bispyrazole and bispyrazolone derivatives.
- [3] Moustafa A. Gouda, Hadeer Fakhr Eldien, Margret M. Girges, Maged A. Berghot . Synthesis and antitumor evaluation of thiophene based azo dyes incorporating pyrazolone moiety. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.06.004> Arabian Journal of Chemistry
- [4] Wang, L. F., & Zhang, H. Y. (2003). A theoretical investigation on DPPH radical-scavenging mechanism of edaravone. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13(21), 3789-3792.
- [5] Watanabe, T., Tahara, M., & Todo, S. (2008). The novel antioxidant edaravone: from bench to bedside. *Cardiovascular therapeutics*, 26(2), 101-114.
- [6] Kamogawa, E., & Sueishi, Y. (2014). A multiple free-radical scavenging (MULTIS) study on the antioxidant capacity of a neuroprotective drug, edaravone as compared with uric acid, glutathione, and trolox. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(5), 1376-1379.
- [7] Minnelli, C., Laudadio, E., Galeazzi, R., Rusciano, D., Armeni, T., Stipa, P., ... & Mobbili, G. (2019). Synthesis, characterization and antioxidant properties of a new lipophilic derivative of edaravone. *Antioxidants*, 8(8), 258.
- Al-Labban, H. M. Y. (2017). Synthesis, characterization and study of biological activity of some new 1, 2, 3, 4-Tetrazole derivatives. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(10), 3645-3652.
- [8] Aslam, M., Anis, I., Mehmood, R., Iqbal, L., Iqbal, S., Khan, I., ... & Perveen, S. (2016). Synthesis and biological activities of 2-aminophenol-based Schiff bases and their structure–activity relationship. *Medicinal Chemistry Research*, 25(1), 109-115.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Au cours de ce travail nous avons présenté quelques résultats sur la synthèse et l'évaluation biologique des dérivés azoïques contenant un motif edaravone ou la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one. Ces composés qui montrent une activité biologique intéressante vis-à-vis les radicaux libres et les bactéries ont été préparés avec succès en utilisant des réactions classiques et efficaces. L'edaravone a été préparé par la méthode ancienne du **Knorr** en chauffant à reflux un β -cétoester (éthyl acétoacétate) avec un dérivé d'hydrazine comme le phénylhydrazine dans l'éthanol comme solvant. La 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one ainsi obtenu peut facilement copuler en (α) de son carbonyle avec des sels de diazonium. Ces derniers ont été préalablement préparés d'une manière insitu par une réaction de diazotation des amines aromatiques correspondantes avec du nitrite de sodium dans une solution d'acide chlorhydrique à basse température (0-5°C). La réaction de copulation entre la 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one et les sels de diazonium engendre des colorants azoïques à base d'edaravone. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant le DPPH comme un radical libre qui peut facilement être piégé par les composés pyrazolones synthétisés. L'activité antibactérienne a été effectuée en utilisant deux genres de bactérie *Escherichia coli* à gram négatif et *Staphylocoques* à gram positif. Les résultats obtenus à partir de cette étude expérimentale nous permettent de mettre en évidence les conclusions suivantes :

- 1- L'edaravone ou 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one préparé par le procédé de **Knorr** a été obtenu avec un bon rendement (83%) et avec une bonne pureté.
- 2- Le spectre IR de l'edaravone est similaire avec celle trouvée dans la littérature, ce qui indique clairement le bon déroulement de cette synthèse.
- 3- Les sels de diazonium ont été utilisés dans l'étape de copulation sans aucune purification et sans caractérisation, en raison de la difficulté de séparer ces sels instables, qui peuvent facilement se décomposer spontanément à une température supérieure à 10°C.
- 3- La synthèse des dérivés azoïques en faisant réagir 3-méthyl-1-phényl-2-pyrazolin-5-one avec les sels de diazonium a également été effectuée dans des conditions douces, ce qui nous permet de nous procurer des dérivés pyrazolones colorants en présence de la liaison azoïque.
- 4- Les tests de l'activité antioxydante montrent que tous les dérivés de pyrazolone synthétisés possèdent une activité antioxydante. En effet, l'activité de piégeage du radical libre DPPH augmente avec la concentration des pyrazolones, ou nous constatons que l'edaravone a un potentiel antioxydant le plus élevé. D'une façon générale, l'activité

Conclusion Générale

antioxydante des pyrazolones azoïques sont de l'ordre suivant : ED>4A4NPH> OA >OPH> SULF >MPH >MA> PPH> ACET> PA.

5- Les testes de l'activité antibactérienne des molécules ciblées en utilisant *Escherichia coli* à gram négatif et *Staphylocoques* à gram positif révèlent que les pyrazolones ont une faible activité antibactérienne, sauf dans le cas de o-tolidine qui montre un pouvoir antibactérien l'inhibition assez important vis-à-vis l'inhibition de l'évolution des bactéries *Escherichia Staphylocoques*. L'activité antibactérienne des pyrazolone est classée suit :

✓ Staphylococcus : TOL >2A2N> SULF> ACET> PA >MPH, PPH> ED >ANI,OA,4N4A OPH , MA

✓ E. coli : MPH> TOL >ED > PA>PPH >ACET >OPH >ANI, OA ,MA ,SULF

En perspective :

✓ Etude spectrale plus performant en faisant appelle aux méthodes (RMN ¹H, RMN ¹³C, Spectroscopie de masse et DRX) pour déterminer et confirmer la structure des différents pyrazolones synthétisés.

✓ Etude du mécanisme antioxydant et antibactérien à l'aide des calculs de la chimie quantique, notamment Docking pour prévoir le mécanisme d'inhibition et afin trouver une corrélation entre l'activité biologique et les paramètres structuraux des molécules de pyrazolone.

✓ Recherche d'autres applications des pyrazolones comme par exemple l'inhibition de la corrosion des métaux dans les solutions acides ou dans la chimie analytique.

Annexe

Annexe

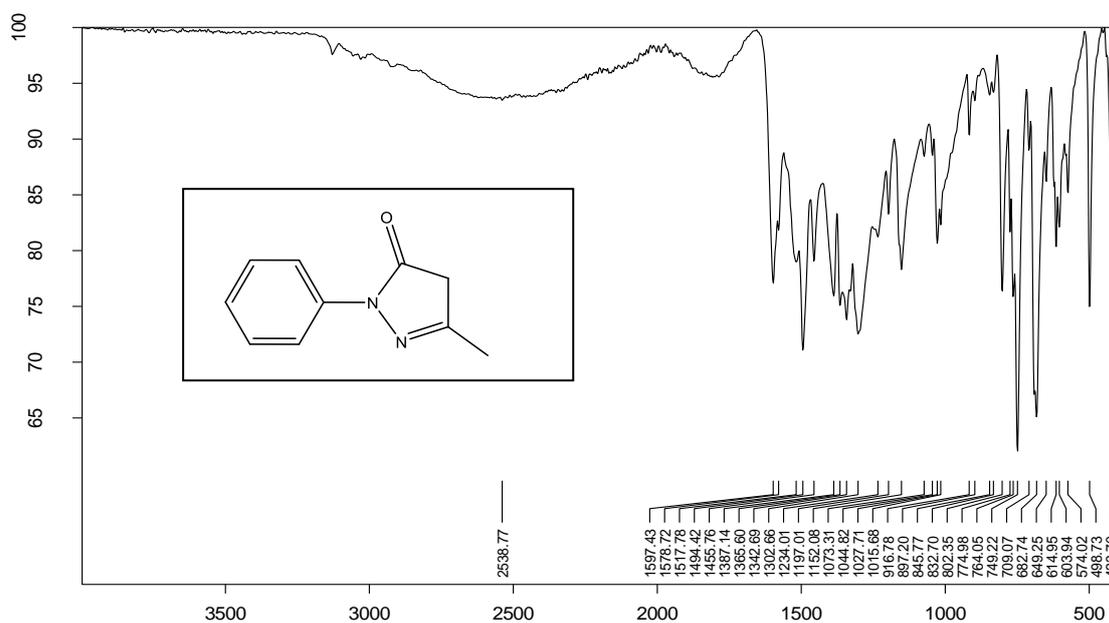


Figure 1 : Spectre d'absorption IR de 5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (ED)

IR (Cm⁻¹) : 3034 (C-H, Ar-H)

: 2887(C-H, CH₃)

: 1665(C=O, amide)

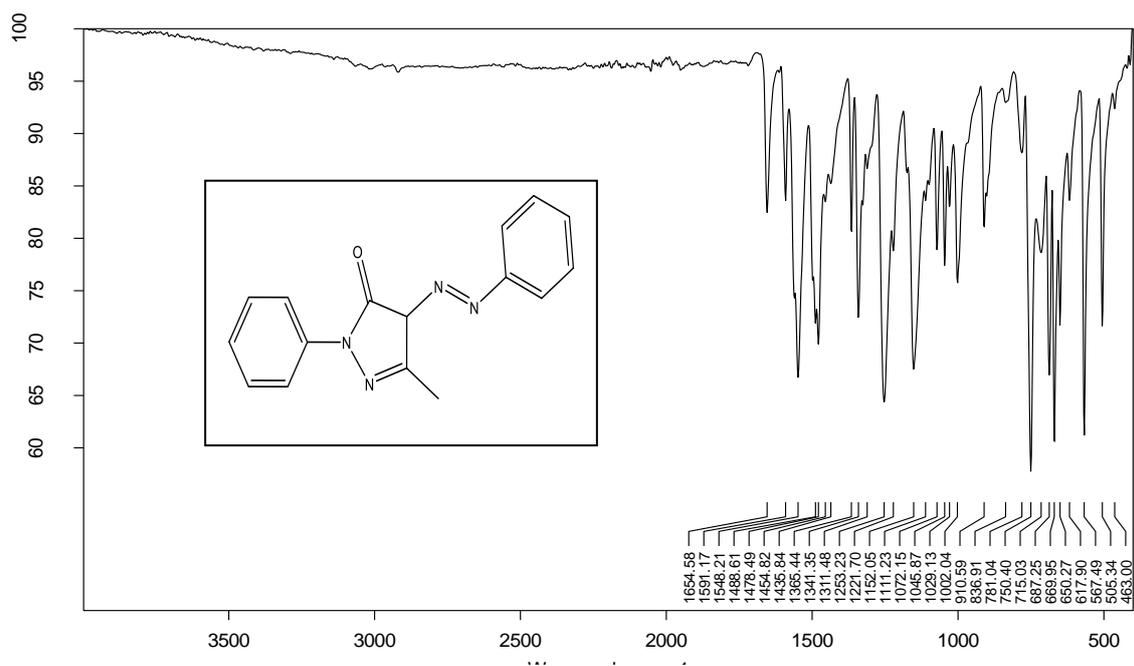


Figure 2 : Spectre d'absorption IR (E)-5-methyl-2-phenyl-4-(phenyldiazenyl)-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one de ('ANIL)

IR(cm-1) : 3019 (C-H, Ar-H)

: 2919(C-H, CH₃)

: 1657(C=O, amide)

: 1482(N=N)

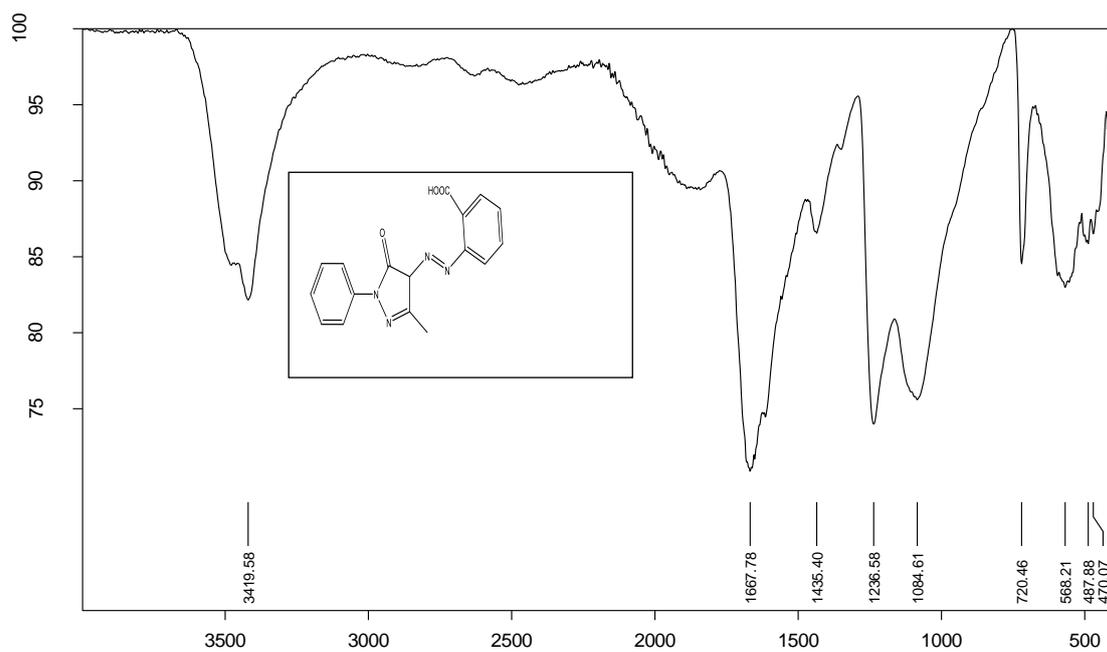


Figure 3 : Spectre d'absorption IR (E)-2-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl)benzoic acid (OA)

IR(cm-1) : 3410 : (OH, Acide carboxylique)

1719 : (C=O, Acide carboxylique)

1444 : (N=N)

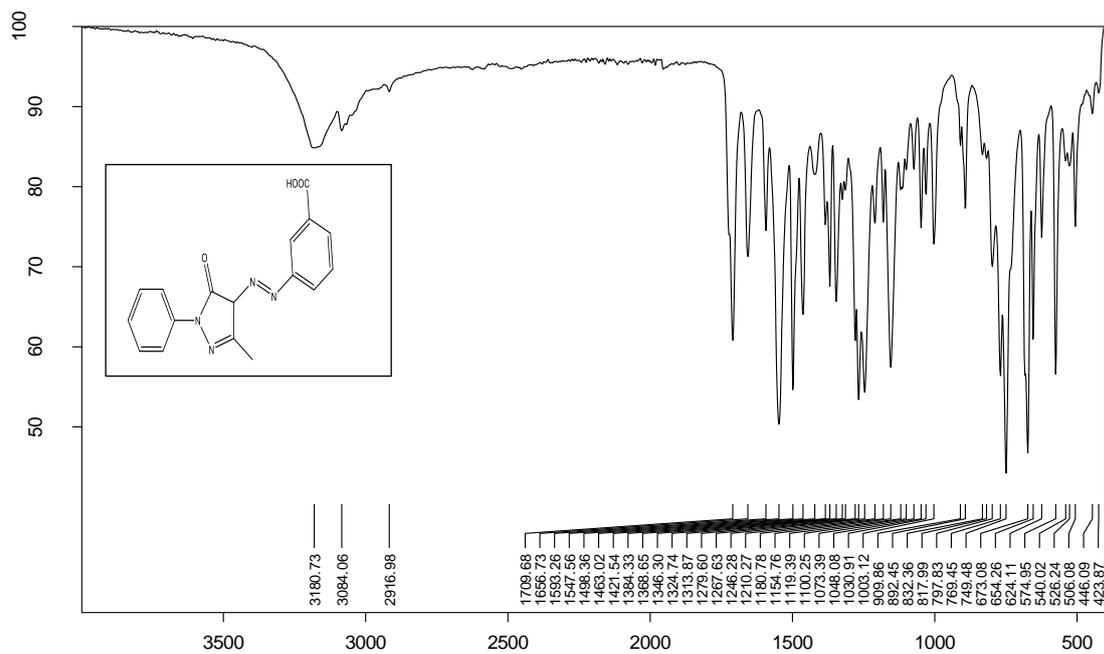


Figure 4 : Spectre d'absorption du (E)-3-((3-méthyl-5-oxo-1-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl) diazenyl)benzoic acid (MA)

IR (cm-1) : 3200 OH, Acide carboxylique)

3082 (C-H,Ar-H)

1710 (C=O, acide carboxylique)

1499 : (N=N)

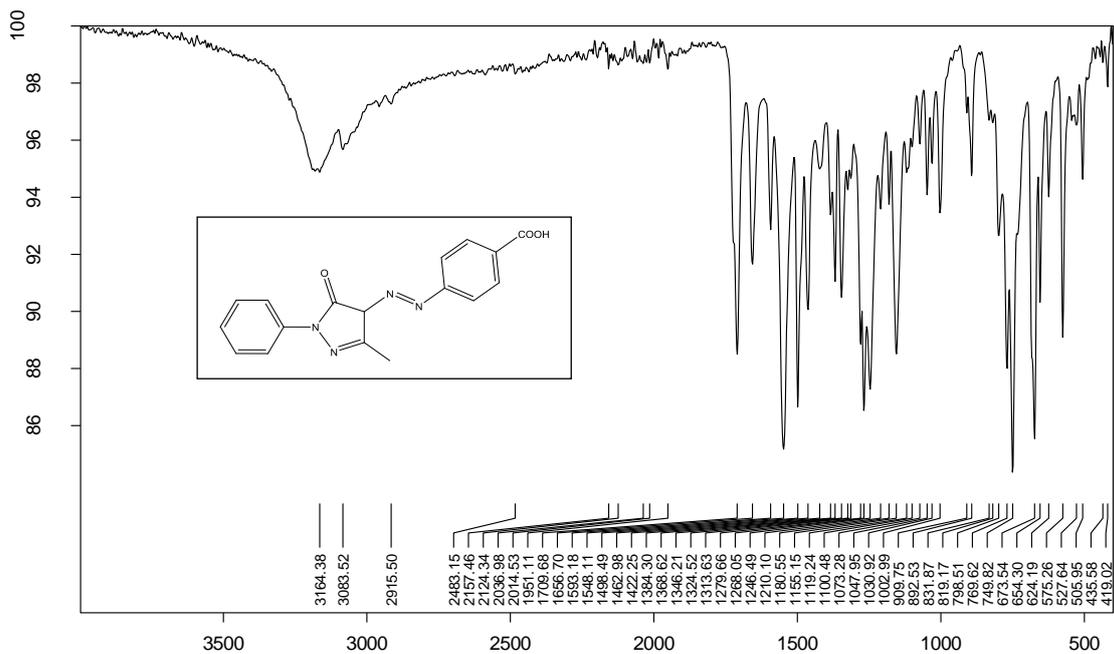


Figure 5 : spectre d'absorption IR de (E)-4-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl) diazenyl)benzoic acid(PA)

IR(cm-1) : 3202 (OH, acide carboxylique)

3083 (C-H, AR-H)

1711 : C=O, acide carboxylique

1500 : N=N

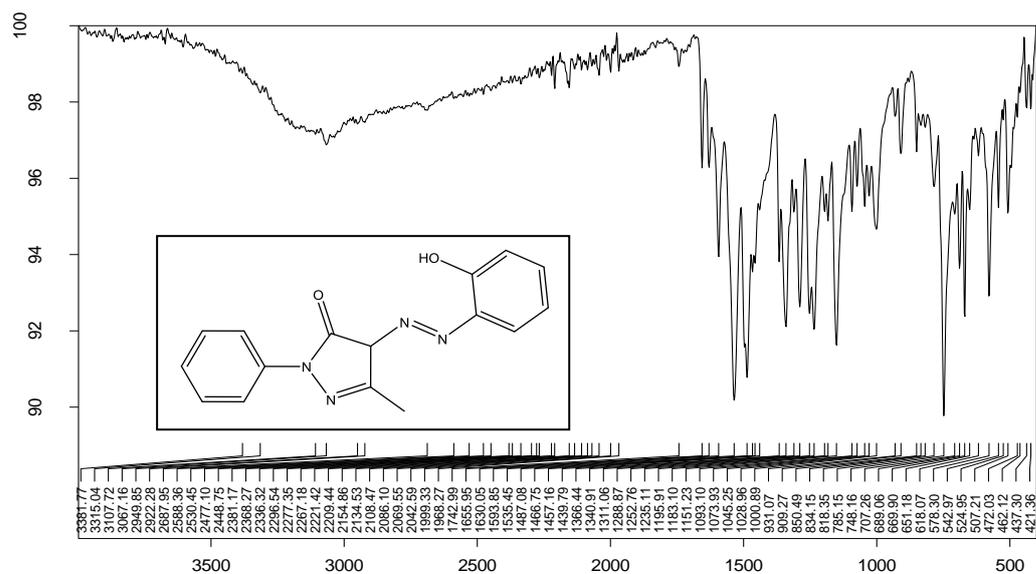


figure 6: spectre d'absorption IR du (E)-4-((2-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (OPH)

IR(cm-1) : 3603 (OH, alcool)

3063 (C-H, Ar-H)

1485 (N=N)

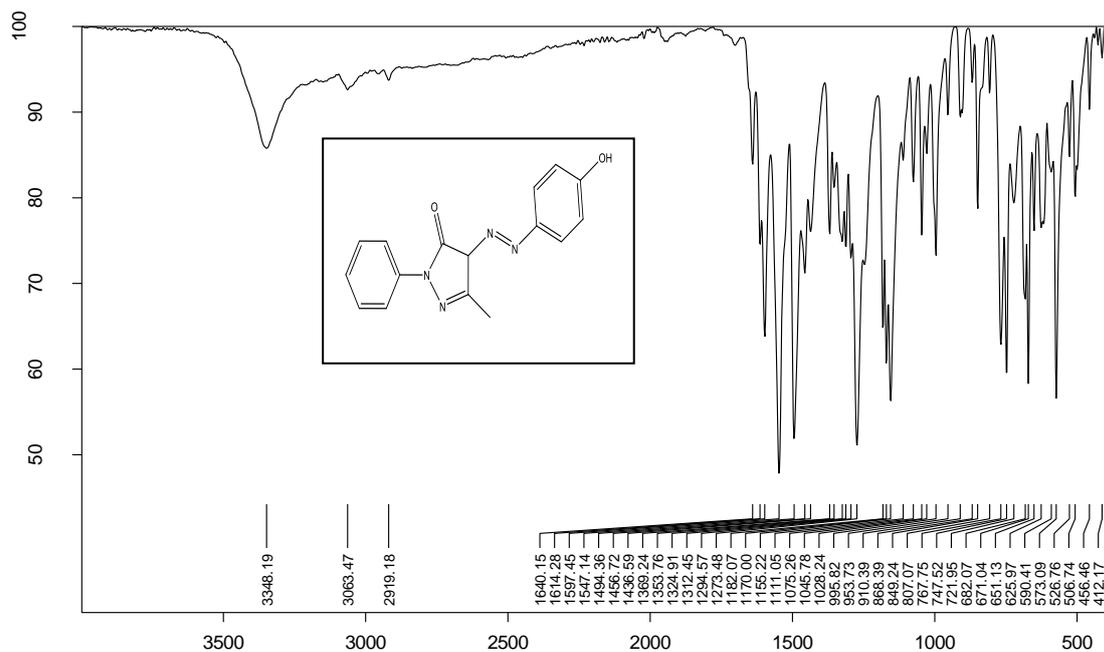


Figure 7 : Spectre d'absorption IR du (E)-4-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (PPH)

IR(cm-1) : 3450 OH, alcool)

3005(C-H, Ar-H)

1495 (N=N)

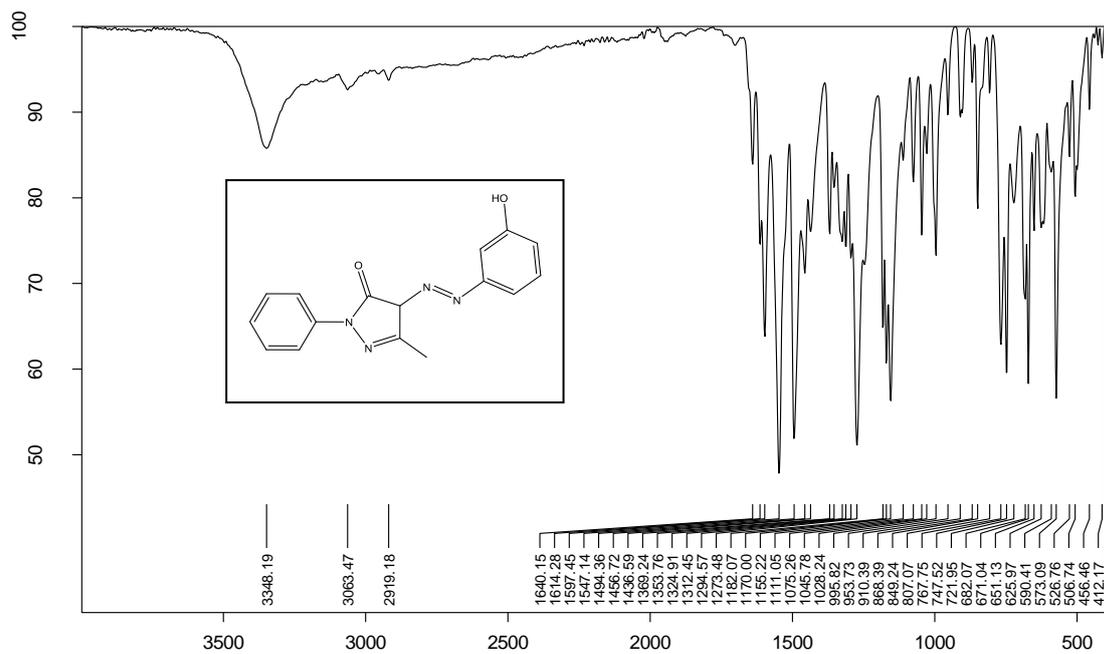


Figure 8 : spectre d'absorption IR du (E)-4-((3-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (MPH)

IR(cm-1) : 3358 (OH, alcool)

3066 (CH, Ar-H)

1498 (N=N)

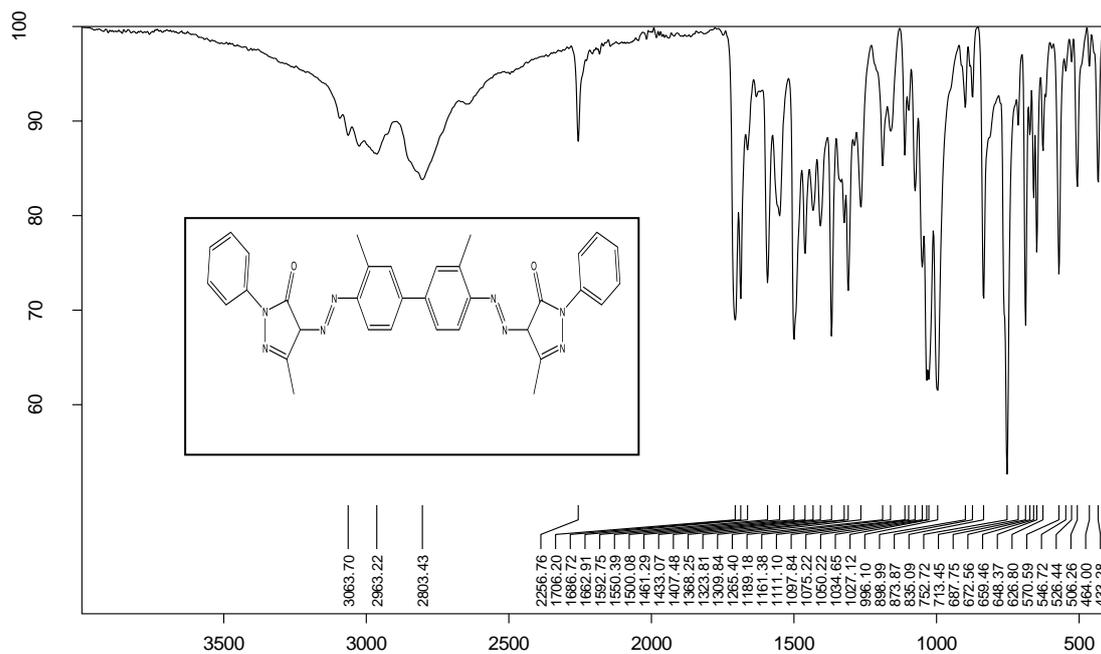


Figure 9 : spectre d'absorption IR du (E)-4-((4-hydroxyphenyl) diazenyl)-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-one (TOL)

IR (cm-1) : 3096 (C-H, Ar-H)

2803(C-H, Ar-H)

1684(C=O, amide)

1498 (N=N)

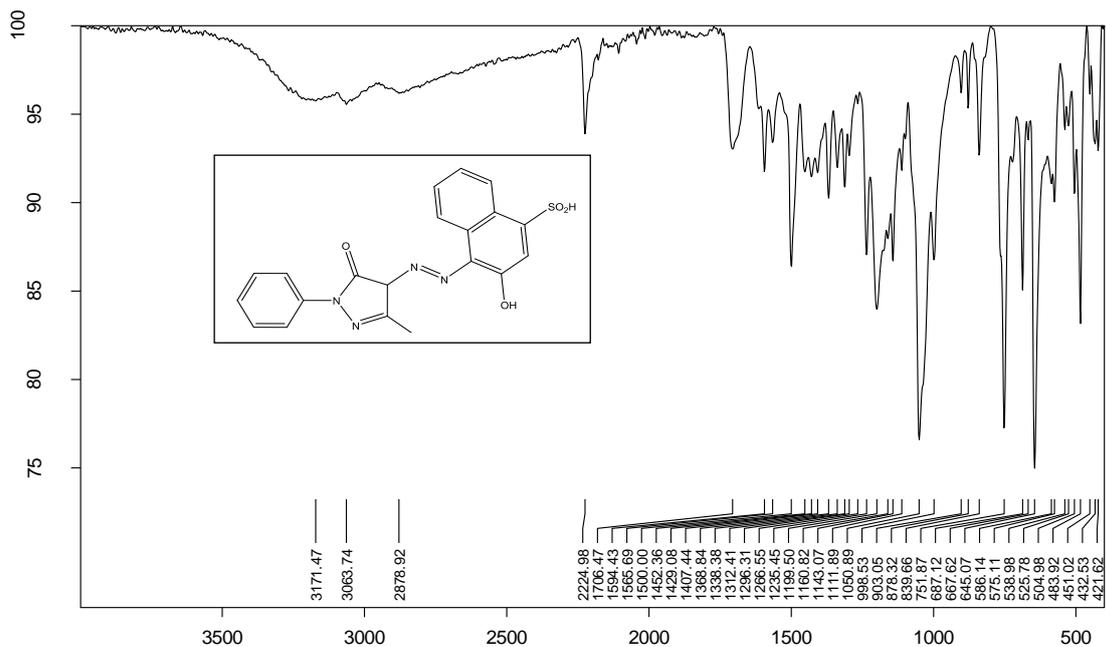


Figure 10 : spectre d'absorption IR du(E)-3-hydroxy-4-((3-methyl-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-4-yl) diazenyl) naphthalene-1-sulfonic acid (SULF)

IR (cm-1) : 3055 : (C-H, CH₃)

2928 (C-H, Ar-H)

1500 : (N=N)

Résumé

Les dérivés pyrazolone sont des syntones et réactifs importants en synthèse organique, ils ont trouvé des applications avec de nombreuses activités pharmacologiques, comme analgésique, anti-inflammatoire, antipyrétique, arythmique et anticonvulsivant. De plus, pyrazolones contenant l'entité azoïque ont été avérées utiles dans les produits agrochimiques, les colorants et avec d'autres applications diversifiées. L'objectif de ce travail est la synthèse et l'évaluation antioxydante et antibactérienne de quelques dérivés pyrazolones. Les résultats obtenus montrent clairement que tous les pyrazolones testés ont une activité antioxydante, notamment, l'edaravone qui possède un potentiel antioxydant très important. Les résultats des tests antibactériens révèlent que seulement le O-tolidine qui a une forte activité antibactérienne.

Abstract

Pyrazolone derivatives are important syntones and reagents in organic synthesis; they have found applications with many pharmacological activities, such as analgesic, anti-inflammatory, antipyretic, arrhythmic and anticonvulsant. In addition, pyrazolones containing the azo entity have been shown to be useful in agrochemicals, dyes and with other diverse applications. The aim of this work is the synthesis, the antioxidant and antibacterial evaluation of some pyrazolone derivatives. The results obtained clearly show that all the pyrazolones tested have antioxidant activity, in particular edaravone, which has very significant antioxidant potential. The results of antibacterial tests reveal that only O-tolidine which has strong antibacterial activity.

ملخص

مشتقات البيرازولون هي مواد متفاعلات مهمة في التركيب العضوي ، وقد وجدت لها تطبيقات عديدة من الأنشطة الدوائية ، مثل المسكنات ، المضادة للالتهابات ، خافض للحرارة ، عدم انتظام ضربات القلب ومضاد الاختلاج. بالإضافة إلى ذلك ، فقد ثبت أن البيرازولونات التي تحتوي على قطعة الأزويك مفيدة في الكيماويات الزراعية والأصبغ والتطبيقات المتنوعة الأخرى. الهدف من هذا العمل هو تركيب وتقييم مضادات الأكسدة والبكتيريا لبعض مشتقات البيرازولون. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح أن جميع البيرازولونات التي تم اختبارها لها نشاط مضاد للأكسدة ، ولا سيما الايدارافون ، الذي يحتوي على نشاط كبير جدًا كمضاد للأكسدة. تظهر نتائج الاختبارات المضادة للبكتيريا أن الاتوليدين هو الوحيد الذي له نشاط قوي كمضاد للبكتيريا.